

KELLY RIBAS LOBATO

**Avaliação do efeito antidepressivo da vitamina E em modelos animais
de depressão**

Florianópolis

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**Avaliação do efeito antidepressivo da vitamina E em modelos animais de
depressão**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Universidade Federal de Santa Catarina como
requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Neurociências.

Orientadora: Prof^a. Ana Lúcia Severo Rodrigues

Florianópolis
2009

“A maravilhosa disposição e harmonia do universo só pode ter tido origem segundo o plano de um Ser que tudo sabe e tudo pode. Isso fica sendo a minha última e mais elevada descoberta.”

Sir Isaac Newton

Agradeço...

Aos meus pais, por me darem condições para chegar até aqui. O amor incondicional que eu recebo de vocês foi essencial para todas as minhas conquistas. Muito obrigada pelo exemplo de dedicação, caráter e pelo investimento feito em mim. Os meus muitos momentos de ausência tinham um objetivo: deixá-los orgulhosos! Pai e Mãe este trabalho é de vocês! Agradeço também o meu irmão Michel, pelo carinho, amor e paciência durante esse período. As ajudinhas com o computador não serão esquecidas!

Ao meu amor, pelo apoio dentro e fora do lab. Rica, ter você ao meu lado tornou tudo muito mais fácil. Muito obrigada pelo amor, companheirismo e compreensão nos momentos difíceis...Tu me torna uma pessoa melhor e o sonho de construir um futuro ao teu lado me estimula a evoluir sempre mais! O imenso amor que sinto por ti foi, com certeza, a minha maior descoberta no mestrado!!!

À minha segunda família em Floripa, Seu José, Dona Liane e Paula (Cunha), por terem me acolhido de braços abertos. O carinho de vocês me motivou inúmeras vezes. Cunha, teu apê foi fonte de inspiração!

À minha família em Santa Maria-RS, cujos interurbanos incansáveis sempre me alegravam e incentivavam. Um agradecimento especial ao Tio Iraqui, por sempre torcer por mim, e ao Tio Mano, pelo grande exemplo acadêmico! Espero que estejam orgulhosos!!! Vô Ribas, os teus “bilhetinhos” ajudaram muito!

Aos amigos da faculdade, que nunca, nem por um segundo, duvidaram da minha capacidade!!! Amo vocês e quero tê-los sempre ao meu lado. Um agradecimento especial às amigas Bru, Cris, Fú, Jujurica, Mari, Poli e Rê, por acreditarem em mim, muitas vezes mais que eu mesma! Rô, dedico a ti esta conquista!

À professora Ana Lúcia, pela oportunidade de realizar o mestrado em um laboratório de excelência. Obrigada por todos os ensinamentos, pelo exemplo de profissionalismo e pela confiança depositada em mim.

Aos amigos do lab de Neurobiologia da Depressão: Manu, Pati, Josi, Dani, Maurício, Rica, Roberto, Luís, Chandra, Juliano, Cris, Andiara, Jarde, Vivi e Grasi, por terem tornado este período tão agradável. Chan, Josi, Rica, Pati e Cris, obrigada pela colaboração direta nos experimentos!!! Eu não sei o que faria sem vocês!

À minha querida amiga e parceira de trabalho Chan, por fazer um dia inteiro de experimento parecer tão fácil! Amiga, não tenho palavras para explicar o carinho que sinto por ti! Obrigada por tudo!

Às melhores “mestras” que uma I.C. pode ter: Pati, Manu e Josi, por terem ensinado tudo o que sei! Mais do que os ensinamentos, ficam meu carinho, amizade e admiração por vocês! Guardo cada uma de vocês no meu coração!

Aos animais experimentais por viabilizarem não apenas o meu estudo, mas o aprimoramento do conhecimento científico e da qualidade de vida do ser humano. Seremos eternamente gratos.

Aos colegas de mestrado e aos professores do PPG-Neurociências, pelo convívio durante estes dois anos. Com certeza aprendi muito com todos vocês. Agradeço em especial ao Professor Alcir, por conceder a vitamina E para realização dos experimentos, pelo “aluguel” do espectro e por toda ajuda e tempo despendidos.

Ao Nivaldo, secretário do PPG-Neurociências, pelos milhares de galhos quebrados, sempre com bom humor e competência!

À CAPES, pela bolsa concedida para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS.....	X
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. DEPRESSÃO	11
1.2. SISTEMAS DE NEUROTRANSMISSORES ENVOLVIDOS NA FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO	15
1.2.1. Sistema Serotoninérgico	15
1.2.2. Sistema Noradrenérgico	17
1.2.3. Sistema glutamatérgico e via da L-arginina-óxido nítrico (NO)	19
1.3. ESTRESSE OXIDATIVO E DEPRESSÃO	22
1.4. MODELOS ANIMAIS DE DEPRESSÃO.....	25
1.5. VITAMINA E	27
1.5.1. Estrutura e Metabolismo.....	27
1.5.2. Vitamina E: atividade antioxidante e antiinflamatória	31
1.5.3. Deficiência de vitamina E.....	33
1.5.4. Vitamina E e Depressão	35
2. JUSTIFICATIVA.....	37
3. OBJETIVOS	38
3.1. OBJETIVO GERAL	38
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1. ANIMAIS	39
4.2. TESTES COMPORTAMENTAIS	39
4.2.1. Teste do Nado Forçado.....	39
4.2.2. Teste de Suspensão da Cauda.....	39
4.2.2. Teste do Campo Aberto.....	40
4.3. DROGAS E TRATAMENTOS.....	40
4.3.1. Vias de administração.....	40
4.3.2. Avaliação do efeito antidepressivo do α -tocoferol em modelos animais preditivos de ação antidepressiva.....	41
4.3.3. Avaliação do mecanismo de ação antidepressiva do α -tocoferol no TNF	41
4.3.3.1. Envolvimento do sistema serotoninérgico	43
4.3.3.2. Envolvimento do sistema noradrenérgico.....	44
4.3.3.3. Envolvimento do sistema glutamatérgico.....	44
4.3.3.4. Envolvimento da via L-arginina-óxido nítrico	44
4.4. EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM A-TOCOFEROL NO TNF E NO SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE DA GLUTATIONA	45

4.5. EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM A-TOCOFEROL NO SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE DA GLUTATIONA	46
4.5.1. Determinação de glutathione total.....	46
4.5.2. Determinação da atividade das enzimas GR e GPx.....	47
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
5. RESULTADOS.....	49
5.1. EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA E NO TEMPO DE IMOBILIDADE DOS ANIMAIS TNF E NO TSC	49
5.2. EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE VITAMINA E NO TEMPO DE IMOBILIDADE DOS ANIMAIS NO TNF E NO TSC.....	51
5.3. EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE VITAMINA E NO SISTEMA DE DEFESA ANTIOXIDANTE DA GLUTATIONA	523
5.4. EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE A-TOCOFEROL NO TESTE DO NADO FORÇADO: MECANISMO DE AÇÃO	57
5.4.1. Envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF	57
5.4.2. Envolvimento do sistema noradrenérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF	61
5.4.3. Envolvimento do sistema glutamatérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF	65
5.4.4. Envolvimento da via L-arginina-NO no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF	67
6. DISCUSSÃO	71
CONCLUSÕES	88
PERSPECTIVAS.....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

RESUMO

A depressão maior é uma doença crônica, grave, ameaçadora de vida, e está entre os transtornos neuropsiquiátricos mais frequentes do mundo ocidental. A hipótese monoaminérgica postula que a depressão resulta de uma diminuição dos níveis de monoaminas no sistema nervoso central, entretanto, outros sistemas neurais e processos bioquímicos, como o estresse oxidativo, podem estar envolvidos na patogênese desta doença. O α -tocoferol, forma mais abundante de vitamina E, é o principal antioxidante lipossolúvel do organismo. Pacientes com depressão apresentam baixos níveis séricos de α -tocoferol, porém nenhum estudo foi conduzido em modelos animais de depressão. Este estudo investigou o efeito do tratamento agudo e crônico com α -tocoferol no teste do nado forçado (TNF) e no teste de suspensão da cauda (TSC) em camundongos, dois modelos animais preditivos de atividade antidepressiva, amplamente utilizados na detecção de novos compostos com ação antidepressiva. O tratamento oral com α -tocoferol nas doses de 30 e 100 mg/kg reduziu o tempo de imobilidade dos animais no TNF e no TSC. A administração central (via i.c.v.) de fosfato de α -tocoferol também foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade no TNF nas doses de 0,1 e 1 nmol/sítio, e no TSC na dose de 0,01 nmol/sítio. O tratamento com α -tocoferol não alterou a locomoção dos animais, avaliada no teste do campo aberto. Além disso, o tratamento crônico (28 dias) com α -tocoferol na dose de 10 mg/kg (p.o.), diminuiu o tempo de imobilidade no TNF, sem causar nenhuma alteração na atividade locomotora dos animais. Considerando o bem estabelecido papel da vitamina E como antioxidante, o efeito da administração crônica de α -tocoferol (p.o.) no sistema de defesa antioxidante da glutathiona (GSH) foi investigado. O tratamento crônico com α -tocoferol na dose de 10 mg/kg foi capaz de aumentar os níveis de GSH no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais. Além disso, o tratamento crônico com α -tocoferol aumentou a atividade das enzimas glutathiona peroxidase e glutathiona redutase no hipocampo (10 mg/kg) e no córtex pré-frontal (10-100 mg/kg). Adicionalmente, foi avaliado o envolvimento dos sistemas monoaminérgico (serotoninérgico e noradrenérgico), glutamatérgico e da via L-arginina-óxido nítrico, no efeito antidepressivo do tratamento agudo com α -tocoferol no TNF. A ação antidepressiva do α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF foi prevenida pelo pré-tratamento com PCPA (100 mg/kg, i.p., 4 dias consecutivos), prazosina (1 mg/kg, i.p.) ou ioimbina (1 mg/kg, i.p.), NMDA (0,1 pmol/sítio, i.c.v.), D-serina (30 μ g/sítio, i.c.v.), L-arginina (750 mg/kg, i.p.), SNAP (25 μ g/sítio, i.c.v.) e sildenafil (5 mg/kg, i.p.), mas não com propranolol (2 mg/kg, i.p.). Além disso, quando administrado em uma dose sub-ativa, o α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) produziu um efeito sinérgico com WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c.), pindolol (32 mg/kg, i.p.), fluoxetina (10 mg/kg, p.o.), fenilefrina (5 mg/kg, i.p.), clonidina (0,06 mg/kg, i.p.), desipramina (8 mg/kg, p.o.), MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.), L-NNA (0,3 mg/kg, i.p.), azul de metileno (18 mg/kg, i.p.) e ODQ (30 pmol/sítio, i.c.v.). Estes resultados mostram que a administração aguda ou crônica de α -tocoferol produz efeito antidepressivo específico em camundongos. Os resultados sugerem ainda, que o tratamento crônico com α -tocoferol aumenta as defesas antioxidantes no hipocampo e no córtex pré-frontal, duas áreas envolvidas da regulação do humor. Além disso, o efeito agudo do α -tocoferol no TNF parece ser mediado, pelo menos em parte, por uma interação com os sistemas serotoninérgico (via receptores 5-HT_{1A}) e noradrenérgico (via receptores α_1 e α_2 -adrenérgicos) e pela inibição de receptores NMDA e da síntese de óxido nítrico e GMPc.

ABSTRACT

Major depression is a chronic, severe, life threatening disease, and one of the most prevalent forms of mental illness in the occidental world. The monoamine theory of depression postulates that this disease results from a deficiency of brain monoaminergic activity, however other neural systems and biochemical process, like oxidative stress, appear to be involved in its pathogenesis. α -Tocopherol, the most active and abundant form of vitamin E, is the major fat-soluble chain-breaking antioxidant of the human organism. Studies have shown that major depression is accompanied by a significant reduction in serum vitamin E concentrations, but no study was conducted in animal models of depression. This study investigated the effect of acute and chronic treatment with α -tocopherol in the forced swim test (FST) and in the tail suspension test (TST), two widely used behavioral tests that predict the efficacy of antidepressant treatments. The oral treatment with α -tocopherol at the doses of 30 and 100 mg/kg reduced the immobility time in the FST and in the TST. The i.c.v. administration of α -tocopheryl phosphate was also able to reduce the immobility time in the FST (0.1 and 1 nmol/site) and in the TST (0.01 nmol/site). The acute treatment with α -tocopherol had no effect in the locomotor activity of animals. In addition, the chronic treatment (4 weeks) with α -tocopherol at the dose of 10 mg/kg reduced the immobility time in the FST, without causing any alteration in the locomotor activity of animals in the open-field test. Considering the well-known role of vitamin E as an antioxidant, the effect of chronic treatment with α -tocopherol in the glutathione (GSH) antioxidant system was investigated. The chronic treatment with α -tocopherol (10 mg/kg) increased the GSH levels in the hippocampus and in the prefrontal cortex. Moreover, the treatment with α -tocopherol increased the glutathione peroxidase and glutathione reductase activity in the hippocampus (10 mg/kg) and in the prefrontal cortex (10-100 mg/kg). Additionally, this study investigated the involvement of the monoaminergic (serotonergic and noradrenergic) and glutamatergic systems, and of the L-arginine-NO pathway, in the antidepressant-like effect of α -tocopherol in the FST. The anti-immobility effect of α -tocopherol (100 mg/kg, p.o.) was prevented by the pre-treatment of mice with PCPA (100 mg/kg, i.p., four consecutive days), prazosin (1 mg/kg, i.p.), yohimbine (1 mg/kg, i.p.), NMDA (0.1 pmol/site, i.c.v.), D-serine (30 μ g/site, i.c.v.), L-arginine (750 mg/kg, i.p.), SNAP (25 μ g/site, i.c.v) and sildenafil (5 mg/kg, i.p.), but not with propranolol (2 mg/kg, i.p.). In addition, a sub-effective dose of α -tocopherol (10 mg/kg, p.o.) produced a synergistic antidepressant-like effect with WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c.), pindolol (32 mg/kg, i.p.), fluoxetine (10 mg/kg, p.o.), phenylephrine (5 mg/kg, i.p.), clonidine (0,06 mg/kg, i.p.), desipramine (8 mg/kg, p.o.), MK-801 (0.001 mg/kg, i.p.), L-NNA (0.3 mg/kg, i.p.), methylene blue (18 mg/kg, i.p.) and ODQ (30 pmol/site, i.c.v.). This study showed that acute and chronic treatment with α -tocopherol produces a specific antidepressant-like effect in animal models of depression. Our results also suggest that the chronic treatment with α -tocopherol improves the antioxidant defences in the hippocampus and in the prefrontal cortex of mice. Moreover, the effect of the acute administration of α -tocopherol in the FST seems to be mediated, at least in part, by an interaction with serotonergic (through 5-HT_{1A} receptors) and noradrenergic (through α_1 e α_2 -adrenoceptors) systems and by the inhibition of NMDA receptors and of NO and cGMP synthesis.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Sintomas da Depressão.....	12
Tabela 2. Classes de antidepressivos.....	14
Figura 1. Neurotransmissão serotoninérgica.....	17
Figura 2. Neurotransmissão noradrenérgica.....	19
Figura 3. Excitotoxicidade glutamatérgica.....	22
Figura 4. Formação das ERO e defesas antioxidantes.	23
Figura 5. Neutralização do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos.....	24
Figura 6. Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis.....	28
Figura 7. Metabolismo da vitamina E.	30
Figura 8. Peroxidação lipídica e sua terminação pelo α -tocoferol.....	31
Figura 9. Atividade antiinflamatória do α -tocoferol.....	33
Figura 10. Efeito da administração sistêmica de α -tocoferol no TNF, TSC e TCA. ...	49
Figura 11. Efeito da administração central de α -tocoferol no TNF, TSC e TCA	50
Figura 12. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol no TNF.	51
Figura 13. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol no TCA.....	52
Figura 14. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol no sistema de defesa antioxidante da glutathione no hipocampo.....	54
Figura 15. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol no sistema de defesa antioxidante da glutathione no hipocampo.....	56
Figura 16. Efeito do pré-tratamento com o inibidor da síntese de 5-HT, PCPA na ação antidepressiva do α -tocoferol no TNF.....	57
Figura 17. Efeito do tratamento com WAY100635 em potencializar a ação antidepressiva do α -tocoferol no TNF	58
Figura 18. Efeito do tratamento com pindolol combinado com uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF e no TCA.....	59
Figura 19. Efeito da co-administração de doses sub-ativas de α -tocoferol e fluoxetina no tempo de imobilidade no TNF e no TCA	60
Figura 20. Efeito do pré-tratamento com prazosina ou ioimbina na redução do tempo de imobilidade causada pelo α -tocoferol no TNF.....	61
Figura 21. Efeito da administração de fenilefrina com uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF e no TCA.....	62
Figura 22. Efeito do tratamento com clonidina combinado com uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF e no TCA.....	63
Figura 23. Efeito da co-administração de doses sub-ativas de desipramina e α -tocoferol no TNF e no TCA.....	64
Figura 24. Efeito do pré-tratamento dos animais com NMDA ou com D-serina sobre a redução do tempo de imobilidade causada pela administração de α -tocoferol no TNF.....	65
Figura 25. Efeito do tratamento com MK-801 em potencializar a ação antidepressiva do α -tocoferol no TNF.....	66
Figura 26. Efeito do pré-tratamento com L-arginina ou SNAP na redução do tempo de imobilidade causada pela administração de α -tocoferol no TNF.....	67
Figura 27. Efeito da administração de uma dose sub-ativa de α -tocoferol combinada com doses sub-ativas de L-NNA no TNF e no TCA.....	68
Figura 28. Efeito da administração de uma dose sub-ativa de α -tocoferol combinada com doses sub-ativas de azul de metileno e ODQ no TNF e TCA.....	69
Figura 29. Efeito do pré-tratamento com sildenafil na redução do tempo de imobilidade causada pela administração de α -tocoferol no TNF.....	70
Figura 30. Mecanismos envolvidos no efeito antidepressivo da administração aguda de α -tocoferol no TNF.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA - análise de variância
ATP - adenosina 5' - trifosfato
CaMKII - proteína quinase II dependente de cálcio e calmodulina
GCs - guanilato ciclase solúvel
ERO – espécies reativas de oxigênio
GMPc - guanosina 5'-monofosfato cíclico
GMP- guanosina 5'-monofosfato
GPx - glutational peroxidase
GR - glutational redutase
GSH - glutational na forma reduzida
GSSG - glutational na forma oxidada
GTP – guanosina 5'-trifosfato
5-HT - serotonina
5-HTP - 5-hidroxitriptofano
5-HTT – transportadores de serotonina
ISRN - inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina
ISRS - inibidor seletivo da recaptação de serotonina
i.c.v. - intracerebroventricular
i.p. - intraperitoneal
L-NNA - N^G-nitro-L-arginina
LPS - lipopolisacarídeo
MAO - monoamino oxidase
NA - noradrenalina
NET - transportador de noradrenalina
NMDA - N-metil-D-aspartato
NO - óxido nítrico
NOSn - óxido nítrico sintase neuronal
ODQ - 1H-[1,2,4]Oxadiazol[4,3-a]quinoxalin-1-ona
PDE - fosfodiesterase
PCPA - p-clorofenilalanina metil éster
PKC - proteína quinase C
PKG - proteína quinase dependente de GMPc
p.o. - per os
s.c. - subcutânea
SNAP - S-nitroso-N-acetil-penicilamina
SNC - sistema nervoso central
SOD - superóxido dismutase
TCA - teste do campo aberto
TH - triptofano hidroxilase
TNF - teste do nado forçado
TSC - teste da suspensão da cauda
 α -TTP - proteína de transferência de α -tocoferol
WAY100635 - N-{2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil}-N-(2-piridinil) ciclohexanocarboxamida

1. Introdução

1.1. Depressão

Os transtornos de humor são mudanças patológicas episódicas no estado emocional, associadas a anormalidades na cognição e comportamento (American Psychiatric Association, 1994). Estes transtornos são doenças comuns, severas, crônicas, ameaçadoras de vida e encontram-se entre as 30 principais causas de doenças no mundo, o que as torna um grave problema de saúde pública (Frangou, 2006; Nestler e Carlezon, 2006). Dentre os transtornos de humor, a depressão maior destaca-se por ser uma das doenças neuropsiquiátricas mais frequentes no mundo ocidental, com aproximadamente 240 milhões de pessoas afetadas, o que reflete uma prevalência de 17% na população (Wong e Licinio, 2001; Nestler et al., 2002). Formas graves de depressão afetam 2% a 5% da população dos Estados Unidos (Nestler et al., 2002) e indivíduos que sofrem de depressão severa apresentam altas taxas de comorbidades e mortalidade (Nemeroff, 2007). Estima-se que no Brasil existam aproximadamente 54 milhões de pessoas que em algum momento de suas vidas desenvolverão algum tipo de depressão, sendo que 7,5 milhões terão episódios agudos e graves, muitas com risco de suicídio (Nardi, 2000).

De acordo com a Associação Americana de Psiquiatria, a depressão é uma doença heterogênea com manifestações fisiológicas, comportamentais e psicológicas (American Psychiatric Association, 1994). O diagnóstico da doença baseia-se na observação clínica dos sintomas enumerados na **Tabela 1**, que são altamente variáveis e muitas vezes contrastantes. Para o indivíduo preencher os critérios para o diagnóstico de depressão maior, deve apresentar pelo menos um entre os dois primeiros sintomas e mais o número necessário para perfazer um total de cinco entre os sintomas três a nove, com duração mínima de duas semanas (American Psychiatric Association, 1994).

Tabela 1. Sintomas da Depressão

-
- | |
|--------------------|
| 1. Humor deprimido |
| 2. Anedonia |
-
- | |
|---|
| 3. Falta de esperança, desespero, sentimento de culpa ou desvalia |
| 4. Perda de peso e apetite/ ganho de peso ou apetite |
| 5. Agitação psicomotora/ letargia |
| 6. Fadiga ou falta de energia |
| 7. Pensamentos recorrentes de morte ou suicídio |
| 8. Dificuldade de concentração |
| 9. Insônia/ hipersônia |
-

Fonte: Manual de Diagnóstico e Estatístico dos Distúrbios Mentais (American Psychiatric Association, 1994).

Os sintomas depressivos apesar de muito comuns são pouco detectados nos pacientes atendidos por outras especialidades médicas, o que permite o desenvolvimento e prolongamento desse problema, comprometendo a qualidade de vida e aumentando o risco de morte do paciente, uma vez que os índices de suicídio são cerca vinte vezes maiores em pacientes deprimidos quando comparados à população em geral (Harris e Barraclough, 1997; Charney, 1998). Além disso, a depressão causa uma considerável morbidade psiquiátrica, perda de produtividade e representa o principal fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças arteriais coronarianas e isquemia cerebral (Nemeroff e Owens, 2002; Lemke, 2008).

Os mecanismos envolvidos na patogênese da depressão ainda não são totalmente compreendidos. A hipótese monoaminérgica postula que a doença resulta de uma deficiência de serotonina (5-HT) ou noradrenalina (NA), ou ainda de receptores deficientes para estes neurotransmissores (Schildkraut, 1965). Esta hipótese foi criada na década de 1960 para tentar explicar as bases neuroquímicas envolvidas na etiologia e tratamento da depressão, e baseou-se no mecanismo de ação dos dois primeiros fármacos antidepressivos: a iproniazida, utilizada no tratamento da tuberculose, e a

imipramina, descoberta durante a pesquisa de novos compostos anti-histamínicos (Delay et al., 1952; Kuhn, 1958; Nestler et al., 2002). Estes dois antidepressivos, descobertos ao acaso e utilizados empiricamente, produziam elevação de humor e euforia e tinham em comum a capacidade de aumentar os níveis sinápticos de monoaminas (Nestler et al., 2002). Outras evidências que corroboram com hipótese monoaminérgica são (i) o aparecimento de sintomas depressivos em cerca de 25% dos pacientes que fazem o uso de reserpina, fármaco capaz de depletar as catecolaminas utilizado como anti-hipertensivo (McArthur e Borsini, 2006); (ii) os baixos níveis plasmáticos de 5-HT observados em pacientes com depressão maior (Coppen e Doogan, 1988) (iii) o nível reduzido de ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), um metabólito da 5-HT, no líquor de pacientes depressivos (Ricci e Wellman, 1990).

Passados cerca de 50 anos da descoberta dos antidepressivos, poucos avanços foram feitos apesar da vasta gama de fármacos disponível no mercado (Belmaker, 2008). Os antidepressivos podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação em: inibidores da monoamina oxidase (iMAO), antidepressivos tricíclicos (TCA), inibidores seletivos da recaptação de 5-HT (ISRS), inibidores seletivos da recaptação de NA (ISRN) e antidepressivos atípicos (**Tabela 2**). Apesar do uso em larga escala na clínica, a farmacoterapia antidepressiva está longe de ser ideal, uma vez que a resposta aos antidepressivos não é imediata e costuma ocorrer entre a segunda e a quarta semana de uso (Nestler et al., 2002). Além disso, os antidepressivos somente proporcionam uma remissão completa da sintomatologia em cerca de 50% dos indivíduos com depressão maior (Nestler et al., 2002) e apresentam uma série de efeitos colaterais tais como ganho de peso e sedação (Brunello et al., 2002).

Tabela 2 - Classes de antidepressivos

Classe	Mecanismo de ação	Exemplos
iMAO	Inibição da enzima monoamina oxidase, responsável pela degradação de monoaminas	Iproniazida e tranilcipromina
TCA	Inibição da recaptação de 5-HT e NA da fenda sináptica	Imipramina e desipramina
ISRS	Inibição seletiva da recaptação de 5-HT	Fluoxetina e citalopram
ISRN	Inibição seletiva da recaptação de NA	Reboxetina e atomoxetina
Atípicos	1- Inibição da recaptação de dopamina;	1- Bupropiona
	2- Antagonismo de receptores α_2 -adrenérgicos;	2- Mirtazapina
	3- Ativação da recaptação de monoaminas	3- Tianeptina

Fonte: Berton e Nestler, 2006

Apesar de ser a base da farmacoterapia antidepressiva, a hipótese monoaminérgica é bastante simplista, e falha ao não explicar a falta de correlação temporal entre os eventos bioquímicos rápidos que aumentam as monoaminas na fenda sináptica e o início tardio dos efeitos clínicos do tratamento com antidepressivos (Elhwuegi, 2004). Além disso, nem toda droga que aumenta as monoaminas na fenda sináptica atua como antidepressivo (Baldessarini, 1996), alguns antidepressivos não agem no sistema monoaminérgico e antidepressivos atípicos como a tianeptina, aumentam a recaptação de monoaminas (Brink et al., 2006). Esses dados sugerem que o envolvimento de outros sistemas neurais e mecanismos bioquímicos na etiologia da depressão.

Atualmente, novas teorias complementam a hipótese monoaminérgica para um melhor entendimento da fisiopatologia da depressão, como a hipótese neurotrófica que postula que esta doença pode ser desencadeada por alterações nas vias de sinalização que regulam a neuroplasticidade e a sobrevivência celular (Duman, 2000; Schmidt e Duman, 2007). Adicionalmente, estudos mostram que a depressão pode estar associada à neurodegeneração provocada por um aumento do estresse oxidativo (Forlenza e Miller, 2006; Ng et al., 2008), à liberação de citocinas pró-inflamatórias pela ativação do sistema imune (Dunn et al., 2005) e à desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal com conseqüente aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticóides (Pittenger

e Duman, 2008). Existem ainda evidências do envolvimento de outros sistemas de neurotransmissores envolvidos na patogênese da depressão, entre eles destacam-se o sistema glutamatérgico (Skolnick, 1999, 2002) e a via da L-arginina-óxido nítrico (NO) (da Silva et al., 2000; Brocardo et al., 2008b).

1.2. Sistemas de neurotransmissores envolvidos na fisiopatologia da depressão

1.2.1. Sistema Serotoninérgico

O reconhecimento da 5-HT como neurotransmissor data de 1953, quando Gaddum descobriu que o alucinógeno dietilamida do ácido lisérgico (LSD) atuava como antagonista de receptores serotoninérgicos periféricos, sugerindo que seus efeitos centrais também poderiam estar relacionados a esta ação. Posteriormente, foi constatada a presença de 5-HT no sistema nervoso central (SNC) onde, apesar das concentrações relativamente baixas quando comparado a outros tecidos, atua como um importante neurotransmissor (Lowry et al., 2008). O sistema serotoninérgico foi o primeiro sistema reconhecido como importante na etiologia e tratamento dos distúrbios psiquiátricos, de maneira que fármacos que atuam sobre este sistema representam 80% de todos antidepressivos no mercado (Risch e Nemeroff, 1992; Elhwuegi, 2004).

No cérebro, a 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptofano obtido através da dieta, exclusivamente em neurônios localizados nos núcleos da rafe, de onde partem projeções para todas as partes do SNC (Wong et al., 2005) (**Figura 1**). As vias serotoninérgicas estão envolvidas no controle de uma grande variedade de funções fisiológicas, em especial ingestão de alimentos, ciclo sono e vigília, memória, termoregulação, comportamento sexual, locomoção e funções endócrina (Jacobs e Azmitia, 1992; Lowry et al., 2008). O sistema límbico, formado por estruturas encefálicas envolvidas no controle de nossas atividades emocionais e comportamentais,

em particular o hipocampo, área intimamente relacionada aos estados de humor, também recebe uma densa projeção de neurônios serotoninérgicos (Jacobs e Azmitia, 1992).

Os receptores 5-HT são classificados em diferentes famílias (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7) e são capazes de ativar diferentes mecanismos de transdução de sinal (Barnes e Sharp, 1999, Nichols e Nichols, 2008) (**Figura 1**). Os receptores 5-HT₁ são predominantemente inibitórios e interagem com proteínas G inibitórias, diminuindo a atividade da adenilato ciclase quando ativados. Os receptores 5-HT_{1A} são autoreceptores inibitórios pelos neurônios serotoninérgicos dos núcleos da rafe, e seu efeito tende a limitar a taxa de disparo destas células (Sprouse e Aghajanian, 1987). Estes receptores também são expressos pós-sinapticamente em estruturas límbicas e corticais, onde sua modulação parece desempenhar um papel primordial na regulação do humor e no mecanismo de ação de fármacos antidepressivos e ansiolíticos (Hensler, 2002; Lanfumey e Hamon, 2004).

Existem inúmeras evidências clínicas e farmacológicas do envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} na patofisiologia da depressão. Estudos demonstram que a depressão está associada a uma redução no “*binding*” de receptores 5-HT_{1A} (Sargent et al., 2000) e um polimorfismo no gene que codifica estes receptores foi recentemente associado a um aumento na vulnerabilidade à depressão maior (Hensler, 2002; Lemonde et al 2003). Além disso, o tratamento crônico com antidepressivos, bem como a depleção genética dos transportadores de 5-HT, induz uma dessensibilização dos autoreceptores 5-HT_{1A}, sem causar alteração nos receptores pós-sinápticos (Chaput et al., 1986; Mannoury la Cour et al., 2001). Esta dessensibilização gradual dos autoreceptores 5-HT_{1A} poderia levar a um aumento na atividade dos neurônios serotoninérgicos e a maior liberação de 5-HT, fato que explicaria a demora na remissão clínica dos sintomas após o início do

tratamento com antidepressivos. De fato, foi demonstrado que o bloqueio de receptores 5-HT_{1A} é capaz de aumentar a resposta ao tratamento antidepressivo (Artigas, 1996; Whale et al., 2008).

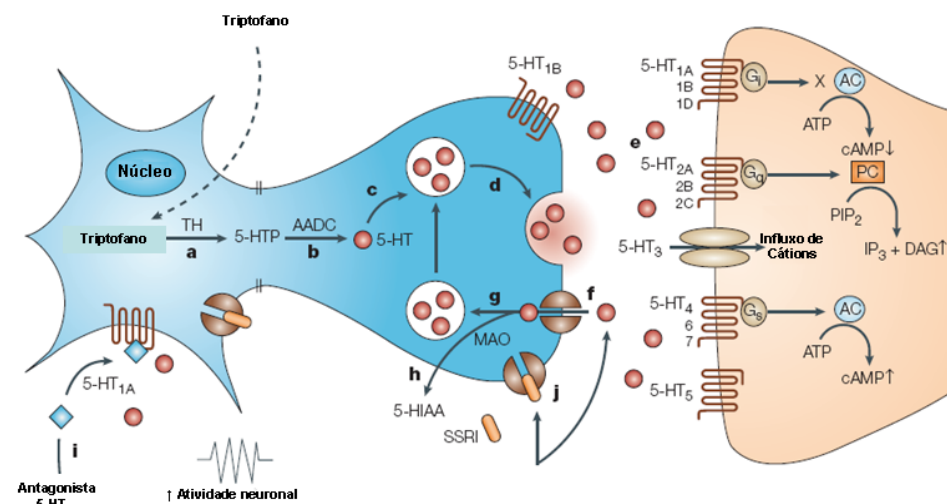


Figura 1. Neurotransmissão serotoninérgica. A enzima triptofano hidroxilase (TH) catalisa a conversão do aminoácido triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP). Posteriormente, a enzima descarboxilase de aminoácidos aromáticos (AADC) converte o 5-HTP em 5-hidroxitriptamina (5-HT). A 5-HT armazenada em vesículas sinápticas é liberada por exocitose e interage com receptores específicos localizados na membrana pré- e pós-sináptica. A 5-HT pode ser recaptada para o terminal pré-sináptico por transportadores específicos, ou degradada por ação das enzimas monoamino oxidase (MAO). Os receptores 5-HT_{1A} também estão presentes pré-sinápticamente e controlam a liberação de 5-HT e a atividade neuronal (Adaptado de Wong et al., 2005).

1.2.2. Sistema Noradrenérgico

A NA é uma amina biogênica sintetizada a partir do aminoácido aromático L-tirosina captado pelos neurônios noradrenérgicos, cujos corpos celulares encontram-se localizados principalmente no locus coeruleus na ponte e na área tegmental ventral da formação reticular (Moore e Bloom, 1979) (Figura 2). As projeções noradrenérgicas mais importantes do ponto de vista psicofuncional partem do locus coeruleus e ascendem do tronco encefálico para inervar tálamo, hipotálamo dorsal, hipocampo e córtex cerebral, onde regulam vias responsáveis por reatividade, atenção, cognição e humor e pelo controle da pressão arterial (Berridge e Waterhouse, 2003).

Os receptores adrenérgicos são classificados em duas famílias: os receptores α -adrenérgicos, subdivididos em receptores α_1 e α_2 , e os receptores β -adrenérgicos, que compreendem os receptores β_1 , β_2 e β_3 -adrenérgicos. Ambas as famílias encontram-se difundidas no SNC e consistem de receptores metabotrópicos acoplados à proteína G (Keltner et al., 2001). Estudos têm demonstrado alterações na sensibilidade destes receptores na depressão maior, bem como no tratamento com antidepressivos (Brunello et al., 2002; Elhwuegi, 2004).

Estudos pré-clínicos mostram que a ativação dos receptores α_1 e α_2 -adrenérgicos pós-sinápticos parecem ser os responsáveis por mediar a resposta aos antidepressivos (Danysz et al., 1986; Masuda et al., 2001). Além disso, o bloqueio de receptores α_1 -adrenérgicos mimetiza o estado depressivo, que assim como o estresse crônico, está associado a dessensibilização destes receptores (Stone et al., 2003). Em contraste, o tratamento crônico com antidepressivos e a terapia eletroconvulsiva aumentam a densidade e a atividade dos receptores α_1 -adrenérgicos no córtex frontal e hipocampo (Stone et al., 2003). Adicionalmente, o tratamento crônico com antidepressivos diminui gradualmente a densidade dos autoreceptores α_2 -adrenérgicos, receptores acoplados à proteína G inibitória cujo principal efeito parece ser a diminuição da taxa de disparo do neurônio noradrenérgico e que se encontram em maior número em pacientes com depressão maior (Flügge et al., 2003; Ordway et al., 2003).

Os receptores β -adrenérgicos também são afetados pelo tratamento com antidepressivos. Estudos mostraram que o número e a atividade destes receptores estão diminuídos no córtex cerebral de ratos após tratamento crônico com desipramina, reboxetina e terapia eletroconvulsiva (Heal et al., 1989; Leonard, 1997; Harkin et al., 2000). Adicionalmente, a administração de atenolol e practolol, dois antagonistas de receptores β -adrenérgicos, potencializou o efeito tipo-antidepressivo da desipramina em

um modelo animal preditivo de ação antidepressiva, enquanto a administração do agonista β -adrenérgico isoprenalina atenuou o efeito deste antidepressivo (Kitada et al., 1983; Miyauchi et al., 1984). Contraditoriamente, estudos mostram o aparecimento de sintomas semelhantes aos da depressão maior em pacientes hipertensivos usuários de agente β -bloqueadores, entretanto, estes dados ainda não são conclusivos (Ried et al., 1998).

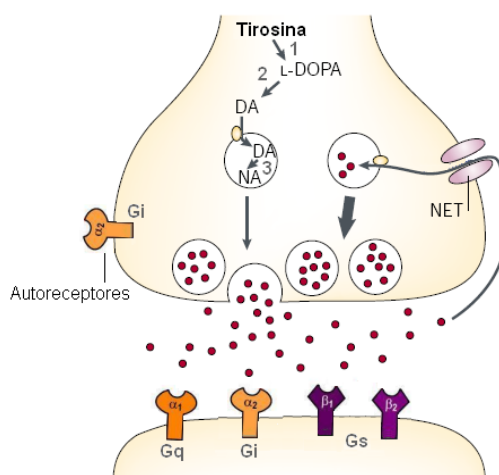


Figura 2. Neurotransmissão noradrenérgica. A NA é sintetizada a partir da tirosina, que pela ação da enzima tirosina hidroxilase (1) é convertida em L-DOPA (L-diidroxifenilalanina). A L-DOPA é convertida, pela enzima diidroxifenilalanina descarboxilase (2), em dopamina (DA) que é transportada para as vesículas sinápticas. Nas vesículas, apenas os neurônios noradrenérgicos possuem a enzima dopamina β -hidroxilase (3), responsável pela síntese de NA. Após sua liberação, a NA pode ativar os receptores pós e pré-sinápticos ou ainda ser recaptada pela ação do transportador de NA (NET) (Adaptado Torres et al., 2003).

1.2.3. Sistema glutamatérgico e via da L-arginina-óxido nítrico (NO)

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do SNC de mamíferos e está envolvido principalmente em eventos de plasticidade sináptica e nas bases moleculares de processos como aprendizado e memória (Tzschentke, 2002; Platt, 2007). Este aminoácido exerce seus efeitos por atuar em duas classes distintas de receptores, os

receptores metabotrópicos e os ionotrópicos, sendo os últimos os principais mediadores da excitotoxicidade provocada pelo excesso de glutamato (Kornhuber e Weller, 1997).

A excitotoxicidade glutamatérgica consiste de uma cascata de eventos desencadeada pela liberação excessiva de glutamato pelos terminais pré-sinápticos de neurônios glutamatérgicos ou ainda, por uma falha em mecanismos de captação de glutamato pelos astrócitos (Gagliardi, 2000). O excesso de glutamato ativa principalmente os receptores ionotrópicos NMDA, canais iônicos modulados por ligantes e por voltagem, que promovem um grande influxo de íons Ca^{2+} para dentro da célula pós-sináptica (Mody e MacDonald, 1995). O excesso de íons Ca^{2+} ativa diferentes vias de sinalização intracelular que convergem para a morte celular por apoptose, além de promover a degradação da membrana plasmática e de organelas, levando à morte celular por necrose (Platt, 2007) (**Figura 3**).

Um grande número de evidências farmacológicas tem atribuído propriedades antidepressivas aos antagonistas de receptores NMDA (Paul e Skolnick, 2003; Palucha e Pilc, 2005). A administração intravenosa de quetamina promove uma atenuação sustentada dos sintomas de pacientes com depressão e melhora a resposta de pacientes refratários ao tratamento com antidepressivos (Berman et al., 2000; Liebreinz et al., 2007). Adicionalmente, o efeito antidepressivo dos antagonistas de receptores NMDA tem sido comprovado em modelos animais de depressão como o estresse crônico, desamparo aprendido, modelos de bulbectomia olfatória e de desespero comportamental (Skolnick, 1999; Kugaya e Sanacora, 2005). Em contraste, a administração do agonista NMDA possui efeito depressogênico no teste do nado forçado em ratos (Rada et al., 2003). Apesar da intensa pesquisa e de serem considerados por alguns autores, uma nova classe de antidepressivos, os antagonistas clássicos de receptores NMDA estão

freqüentemente associados a efeitos adversos, o que dificulta a utilização clínica destes compostos (Kornhuber e Weller, 1997).

Outra consequência da ativação dos receptores NMDA é a ativação da enzima óxido nítrico sintetase neuronal (NOSn), principal responsável conversão de L-arginina em óxido nítrico (NO) no SNC (Calabrese et al., 2007) (**Figura 3**). O NO é uma molécula sinalizadora de natureza gasosa presente em diferentes tecidos, e no SNC desempenha um papel relevante na sinalização neuronal, plasticidade sináptica, aprendizado, percepção da dor, agressividade, ansiedade, estresse e depressão (Harkin et al., 1999; McLeod et al., 2001; Esplugues, 2002).

A produção excessiva de NO pela indução da NOSn por processos como inflamação, estresse crônico e hiperexcitabilidade glutamatérgica está relacionada à patogênese de doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson (Guix et al., 2005; Malinski, 2007; Singh e Dikshit, 2007), e transtornos de humor, como transtorno bipolar e depressão (McLeod et al., 2001; Hoekstra et al., 2006). Uma das consequências do excesso de NO é o aumento do estresse oxidativo pelo aumento de espécies reativas de nitrogênio (ERN), a síntese de mediadores químicos de processos inflamatórios, bem como a ativação de vias apoptóticas (Calabrese et al., 2007) (**Figura 3**). Estudos clínicos demonstram que as concentrações plasmáticas de nitrato são significativamente maiores em pacientes deprimidos quando comparado aos controles, sugerindo que a produção de NO está aumentada na depressão (Suzuki et al., 2001).

Adicionalmente, estudos pré-clínicos mostram que inibidores da NOS e inibidores da GCs, cujas concentrações são aumentadas pelo NO, possuem propriedades antidepressivas em modelos animais (Harkin et al., 1999; Yildiz et al., 2000; Da Silva et al., 2000; Heiberg et al., 2002; Harkin et al., 2003; Volke et al., 2003). Além disso, o estresse crônico moderado causa um aumento na expressão da NOSn no hipocampo,

associado a um perfil depressivo e diminuição da neurogênese em camundongos. Já a depleção genética desta enzima ou o tratamento com inibidores específicos restauram a neurogênese e o perfil comportamental dos animais submetidos ao estresse (Zhou et al., 2007).

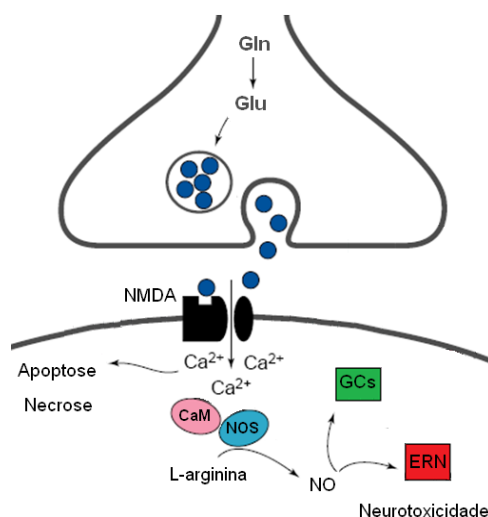


Figura 3. Excitotoxicidade glutamatergica. A liberação excessiva de glutamato (Glu), sintetizado a partir da glutamina (Gln) pela ação da enzima glutaminase, leva à ativação exacerbada dos receptores NMDA. Estes receptores promovem a entrada excessiva de íons Ca^{2+} na célula, ativando vias e processos que podem culminar em morte celular por necrose ou apoptose. Outra consequência é a síntese de NO pela ativação da NOS pelo complexo Ca^{2+} /calmodulina (CaM). O NO formado estimula a enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), responsável pela produção de GMPc a partir do GTP, que modula a atividade de vários alvos intracelulares como proteínas quinases dependentes de GMPc (PKG) e canais iônicos. A produção excessiva de NO leva a formação de ERN, que podem levar ao estresse oxidativo (Adaptado de Nicoletti et al., 1996).

1.3. Estresse Oxidativo e Depressão

O termo “radical livre” define qualquer molécula que possui elétrons desemparelhados no seu orbital mais externo, seja ela orgânica ou inorgânica (Nicholls, 2008). Essas moléculas altamente reativas são produzidas *in vivo* durante o metabolismo celular normal e também quando o organismo é exposto a estímulos como radiação ionizante e xenobióticos (Comporti, 1989). As espécies reativas de oxigênio (ERO) são produzidas durante o metabolismo basal das células aeróbicas e incluem moléculas radicalares, como o ânion superóxido e o radical hidroxila, ou não-radicalares como o peróxido de hidrogênio. O estresse oxidativo é um desequilíbrio na geração e

eliminação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de ERN, o qual induz um aumento da concentração intracelular de moléculas altamente reativas que provocam danos a estrutura das células por promoverem peroxidação lipídica, protéica e quebra do DNA (Sies, 1997; Dringer, 2000).

O organismo possui um sistema de defesas antioxidantes formado por agentes capazes de, em baixas concentrações, retardar ou inibir significativamente a injúria de um substrato oxidável (Halliwell, 2001). Estes agentes antioxidantes podem ser classificados em enzimáticos, dentre os quais destacam-se a enzima superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione redutase (GR) e glutathione peroxidase (GPx), e não enzimáticos como a glutathione (GSH) e as vitaminas E e C (Sies, 1993) (**Figura 4**).

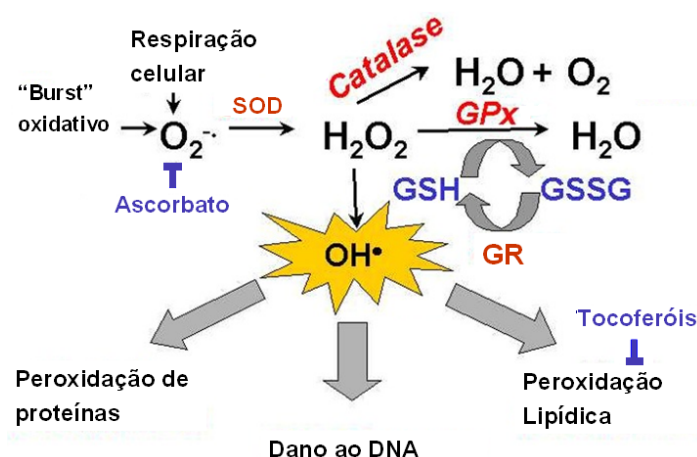


Figura 4. Formação das ERO e defesas antioxidantes. O ânion superóxido proveniente da respiração celular é convertido a peróxido de hidrogênio pela ação da SOD. As enzimas catalase e GPx detoxificam o peróxido de hidrogênio, que se não neutralizado pode formar radicais hidroxila altamente reativos, levando a danos na estrutura celular. As principais defesas antioxidantes atuam em conjunto. A GSH e o ascorbato atuam diretamente sobre as ERO no citosol, enquanto o tocoferol atua impedindo a peroxidação lipídica na membrana plasmática (Adaptado de Eckert, 2003).

Dentre os antioxidantes não enzimáticos, a GSH (L-γ-glutamyl-L-cistenyglycine) representa um dos mais importantes agentes endógenos que combatem as ERO. A GSH é um tiol não protéico constituído de glutamato, cisteína e glicina, que participa de diversos processos celulares, tais como a síntese de DNA, proteínas, leucotrienos e a modulação da função protéica (Dirnagl et al, 2003; Dringen et al., 2005). A GSH pode

reagir não enzimaticamente com diversos compostos oxidantes ou servir de substrato para a ação da enzima glutathione peroxidase (GPx) na detoxificação de peróxidos orgânicos e de hidrogênio (Maher, 2005). A eliminação de peróxidos mediada pela GPx conduz à formação da glutathione dissulfeto (GSSG, glutathione oxidada), a qual pode ser reduzida novamente à GSH por meio da enzima glutathione redutase (GR), em uma reação dependente de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma reduzida (NADPH) (**Figura 5**) (Wang e Balltore, 1998).

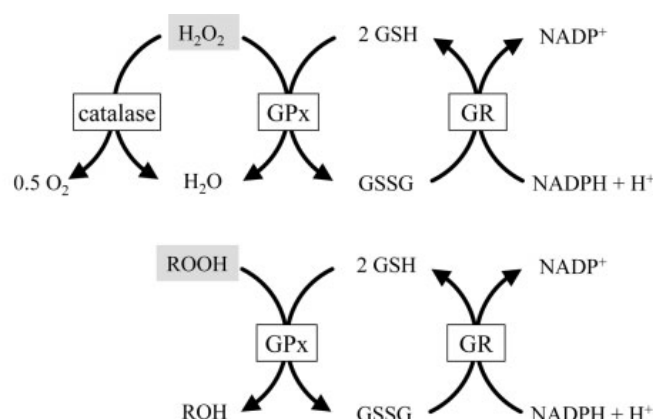


Figura 5. Neutralização do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos. O H_2O_2 é convertida por catalase em oxigênio e água, enquanto a glutathione peroxidase (GPx) reduz tanto H_2O_2 quanto ROOH a água e ao álcool correspondente, respectivamente. A glutathione (GSH), que é oxidada a dissulfeto de glutathione (GSSG) durante a reação da GPx, é regenerada pela glutathione redutase (GR). NADPH que é consumido como co-substrato nas reações catalizadas por GR é fornecido pela glicose-6-fosfato desidrogenase (Adaptado de Dringen et al., 2005).

Comparado a outros tecidos, o SNC é particularmente vulnerável aos danos oxidativos uma vez que consome altas quantidades de oxigênio; é relativamente carente de defesas antioxidantes; é um tecido rico em lipídeos com ácidos graxos insaturados, substratos passíveis de oxidação; contém metais como ferro e cobre, que catalizam reações de oxidação e neurotransmissores com potencial oxidante (Dringen, 2000; Pastore et al., 2003; Halliwell, 2006). A ação central dos radicais livres leva à destruição oxidativa dos neurônios e à neurodegeneração que, por sua vez, está associada a transtornos psiquiátricos (Valko et al., 2007; Ng et al., 2008). Isto sugere que mecanismos envolvendo danos oxidativos podem estar implicados na patogênese destes

transtornos e que a suplementação com antioxidantes pode ser um novo alvo do seu tratamento (Berk et al., 2008b; Ng et al., 2008).

Estudos mostram que os parâmetros de avaliação de estresse oxidativo estão alterados na depressão maior (Tsuboi et al., 2006; Sarandol et al., 2007). Uma correlação positiva foi encontrada entre o “status oxidativo” e a severidade da depressão em pacientes avaliados pela Escala de Depressão de Hamilton (Yanik et al., 2004). Estudos têm demonstrado ainda que pacientes com depressão apresentam menor atividade das enzimas antioxidantes SOD, catalase e GPx (Bilici et al., 2001; Ozcan et al., 2004), menores níveis sanguíneos de defesas antioxidantes como vitaminas C e E (Khanzode et al., 2003; Maes et al., 2000), bem como altos níveis séricos de produtos de peroxidação lipídica como malondialdeído e hidroperóxidos (Ozcan et al., 2004; Tsuboi et al., 2004). Adicionalmente, estudos clínicos e pré-clínicos têm mostrado que o tratamento com ISRS possui efeito antioxidante, revertendo o desequilíbrio oxidativo encontrado no estado depressivo, mas a relação entre estresse oxidativo e depressão ainda não está estabelecida (Bilici et al., 2001; Khanzode et al., 2003; Eren et al., 2007a, 2007b; Herken et al., 2007).

1.4. Modelos animais de depressão

Os modelos animais são ferramentas extremamente necessárias para a melhor compreensão acerca dos mecanismos envolvidos na patofisiologia da depressão (Cryan et al., 2002). Eles são responsáveis em grande parte, pelo desenvolvimento das hipóteses que relacionam as possíveis bases biológicas da depressão, e pelo que se sabe atualmente sobre as ações dos antidepressivos em diversas etapas dos processos de neurotransmissão (McArthur e Borsini, 2006). Apesar da carência de modelos animais desta doença, uma vez que suas causas genéticas e seus sintomas são de difícil

reprodução em animais, modelos com validade preditiva como o teste do nado forçado (TNF) e o teste de suspensão da cauda (TSC) são amplamente utilizados para o desenvolvimento de novos fármacos, bem como para o melhor entendimento dos mecanismos neurais envolvidos na depressão (Nestler et al., 2002; McArthur e Borsini, 2006).

O TNF foi descrito primeiramente por Porsolt et al. (1977), sendo utilizado em ratos e posteriormente em camundongos, enquanto o TSC foi descrito em camundongos por Steru et al., (1985). Estes modelos baseiam-se na observação de que, quando os animais são submetidos a uma situação onde não há possibilidade de escape, após um período de agitação inicial eles adotam uma postura de imobilidade, que pode ser revertida pela administração de antidepressivos. Estes testes estão entre os mais utilizados para o estudo de substâncias com possível ação antidepressiva, são de fácil uso e de boa reprodutibilidade (Cryan et al., 2002; Nestler et al., 2002).

Outros modelos animais para depressão apresentam validade fenomenológica e/ou de constructo além da validade preditiva. Isto é, além de serem sensíveis aos fármacos utilizados clinicamente, mimetizam em animais sintomas ou efeitos neurobiológicos associados à doença. Entre eles, pode-se destacar a bulbectomia olfatória, o modelo do desamparo aprendido, a separação materna, o isolamento social e o estresse crônico (McArthur e Borsini, 2006). Os modelos farmacológicos de depressão também se mostram muito úteis, uma vez que induzem a um comportamento tipo-depressivo por provocarem alterações neuroquímicas semelhantes àsquelas encontradas na depressão (McArthur e Borsini, 2006). Estes modelos incluem a administração de reserpina (McArthur e Borsini, 2006) e de citocinas pró-inflamatórias (Makino et al., 1998; Dunn e Swiergiel, 2005).

1.5. Vitamina E

1.5.1. Estrutura e Metabolismo

A vitamina E é um micronutriente lipossolúvel essencial aos seres humanos, obtido através da dieta pelo consumo de vegetais folhosos, óleos vegetais e frutas oleaginosas (Brigelius-Flohe e Traber, 1999; Sen et al., 2006). Esta vitamina foi descoberta por Evans e Bishop (1922), cujo estudo em vegetais de folhas verdes atribuiu a um fator presente nestes alimentos, denominado inicialmente de “fator X”, papel fundamental na reprodução de ratos. Em 1924, Sure nomeou este fator como vitamina E ou tocoferol, do grego “*tokos*” (prole, descendência) e “*pherein*” (fazer nascer), sendo o sufixo “ol” indicativo de suas propriedades químicas. Estudos posteriores mostraram a proeminente atividade antioxidante desta vitamina, que é a principal responsável pela neutralização de espécies reativas de oxigênio em membranas biológicas (Ricciarelli et al., 2001; Zingg, 2007).

Na natureza, a vitamina E apresenta-se na forma de dois grupos de moléculas lipossolúveis semelhantes (**Figura 6**), os tocoferóis e os tocotrienóis, cada um com análogos α , β , γ e δ (Ricciarelli et al., 2001). As quatro moléculas de tocoferol consistem de um anel cromanol com diferentes padrões de substituição de radicais metil nas posições 5, 7 e 8 do anel, e de uma cadeia lateral saturada de 16 carbonos. Os tocoferóis possuem três centros quirais nos carbonos de maneira que os isômeros naturais possuem configuração *R* nas três posições. As moléculas de tocotrienol diferenciam-se pela cadeia lateral isoprenóide insaturada de 16 carbonos. Todas essas moléculas possuem atividade antioxidante, porém o RRR- α -tocoferol, composto predominante em tecidos vegetais e humanos, possui maior atividade biológica e é a forma capaz de reverter os sintomas da deficiência da vitamina em humanos (Brigelius-Flohe e Traber, 1999). Adicionalmente, o fosfato de α -tocoferol, forma fosforilada de α -

tocoferol, foi recentemente isolado em tecidos vegetais e animais sendo também encontrado em tecidos humanos (Ogru et al., 2003; Gianello et al., 2005). A esta forma de vitamina E, hidrossolúvel e de ocorrência natural, atribui-se funções como as de molécula de reserva de α -tocoferol na célula, forma de transporte de α -tocoferol ou ainda de mensageiro intracelular na transdução de sinal e expressão gênica reguladas por α -tocoferol (Munteanu et al., 2004; Negis et al., 2005).

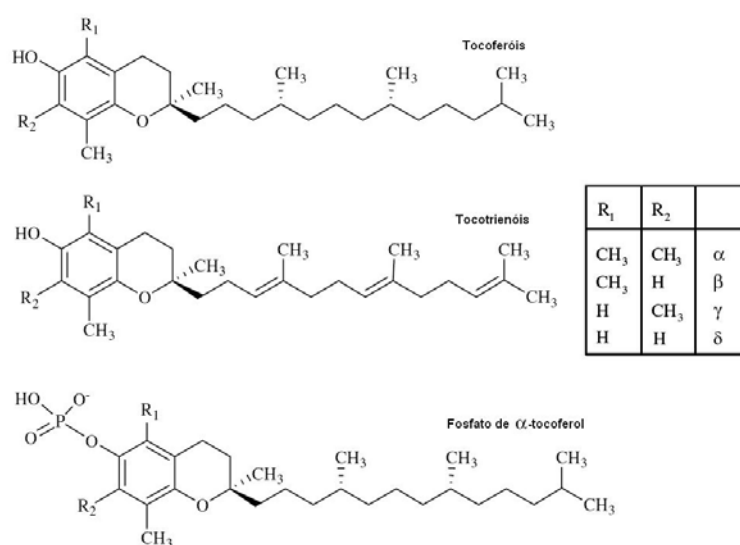


Figura 6. Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis. O termo “vitamina E” abrange estes dois grupos de moléculas. A molécula de fosfato de α -tocoferol é hidrossolúvel e foi encontrada em tecidos animais e vegetais (Adaptado de Sen et al., 2006).

A maior concentração de RRR- α -tocoferol nos tecidos humanos pode ser esclarecida pelo metabolismo da vitamina E no organismo (**Figura 7**). A vitamina E presente nos alimentos ingeridos deixa o estômago inalterada, sendo solubilizada pelos ácidos biliares e subsequentemente absorvida através de difusão pelos enterócitos (Eggermont, 2006). As diferentes formas químicas de vitamina E são bem absorvidas e igualmente incorporadas aos quilomícrons, partículas ricas em triglicerídeos, colesterol, fosfolípidos e apolipoproteínas, responsáveis pela distribuição desses compostos nos tecidos. Nos vasos sanguíneos do tecido adiposo, a ação da enzima lipoproteína lipase sobre a partícula de quilomícron promove a distribuição de parte do conteúdo total de vitamina E neste tecido. O remanescente de quilomícron, depletado em seu conteúdo

pela ação das lipases, segue para o fígado onde a vitamina E é seletivamente absorvida (Schneider, 2005).

Nos hepatócitos, uma proteína denominada proteína de transferência de α -tocoferol (α -TTP) reconhece especificamente a molécula de α -tocoferol e a transfere para a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), enquanto os outros análogos de tocoferol e tocotrienol são excretados diretamente nas fezes ou metabolizados antes de serem excretados na bile e urina (Kayden e Traber et al., 1993). A retenção altamente seletiva de α -tocoferol sugere uma função conservada evolutivamente para esta molécula (Ricciarelli et al., 2001). A α -TTP possui uma seletividade, calculada em relação à ligação com α -tocoferol (100%), de 38% para o β -tocoferol, 9% para o δ -tocoferol, e 2% para o γ -tocoferol. Além disso, a α -TTP possui maior afinidade pelos isômeros *R*. A fração de α -tocoferol contida na partícula de VLDL representa cerca de 90% da quantidade total de vitamina E no soro em humanos, sendo a proteína de transferência de fosfolipídeos presente no plasma a responsável por promover a passagem do α -tocoferol do VLDL para as lipoproteínas de maior densidade (Ricciarelli et al. 2001).

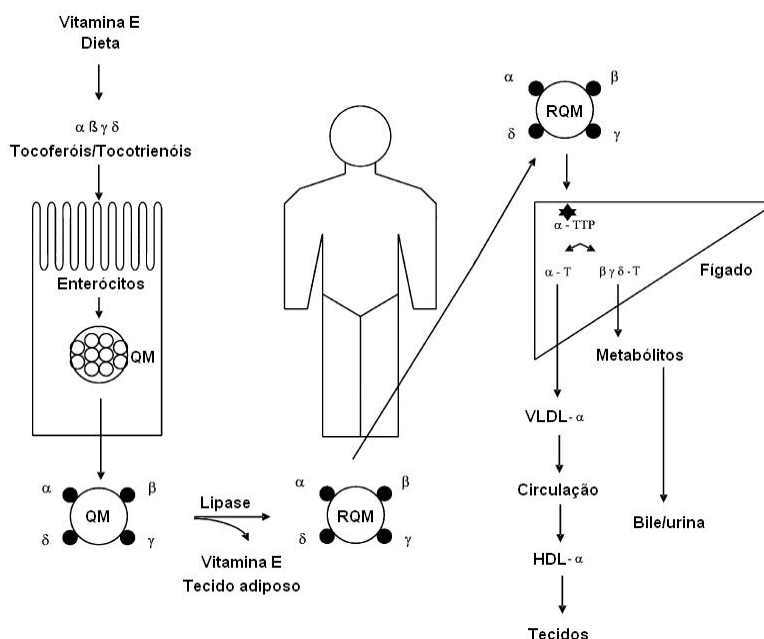


Figura 7. Metabolismo da vitamina E. A vitamina E é absorvida pelos enterócitos e incorporada aos quilomícrons (QM). Nos tecidos periféricos, os QM são hidrolisados, especialmente no tecido adiposo, onde parte da vitamina E é retida. Ao chegar aos hepatócitos, os remanescentes de QM (RQM) carregam os 8 análogos da vitamina E, porém, o α -tocoferol é preferencialmente retido pela α -TTP, responsável pela manutenção dos níveis plasmáticos de α -tocoferol (Adaptado de Eggermont, 2006).

O α -tocoferol presente na lipoproteína de alta densidade (HDL) é a principal fonte de vitamina E para os tecidos (Eggermont, 2006). A α -TTP é encontrada em células da barreira hemato-encefálica, retina, linfócitos, fibroblastos e placenta, onde o α -tocoferol é absorvido de maneira facilitada pelas células (Brigelius-Flohe e Traber, 1999). Em outros tecidos, os mecanismos que regulam a entrada do α -tocoferol e suas concentrações intracelulares permanecem desconhecidos. Proteínas denominadas de proteínas associadas ao α -tocoferol (α -TAP), amplamente distribuídas entre diferentes tipos celulares, podem estar envolvidas no transporte intracelular de α -tocoferol entre compartimentos e a membrana plasmática. Por possuírem atividade de GTPase, estas proteínas podem ser as responsáveis por regular processos como a sinalização intracelular promovida pelo α -tocoferol, secreção de α -tocoferol e ajuste das concentrações da vitamina E nas membranas biológicas (Stocker e Azzi, 2000).

1.5.2. Vitamina E: atividade antioxidante e antiinflamatória

O α -tocoferol é considerado o principal antioxidante lipossolúvel do organismo humano, onde atua impedindo principalmente a peroxidação lipídica, auxiliando assim, na manutenção da integridade das membranas biológicas (Brigelius-Flohé e Traber, 1999, Munteanu et al., 2004). O α -tocoferol reage com os radicais peroxil, produtos primários da oxidação de ácidos graxos, impedindo a propagação da peroxidação lipídica (**Figura 8**). A peroxidação lipídica pode ser definida como uma cascata de eventos bioquímicos resultante da ação dos radicais livres sobre os lípideos insaturados das membranas celulares, levando à destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, numa condição extrema, à morte celular (Benzie, 1996).

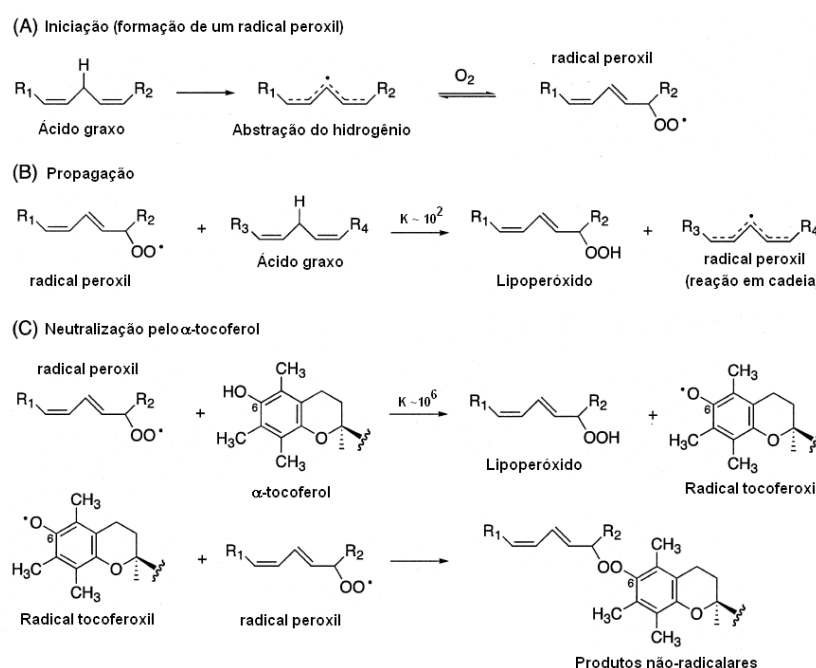


Figura 8. Peroxidação lipídica e sua terminação pelo α -tocoferol. A fase de iniciação representa o início da peroxidação, em que o ácido graxo poliinsaturado sofre ataque de uma espécie que abstrai um átomo de hidrogênio do grupo metileno, formando um radical de carbono, que é rearranjado para formar um dieno conjugado. Em meio aeróbio, o radical alquila formado se combina com o oxigênio formando o radical peroxil, o qual pode abstrair um hidrogênio alílico de outro ácido graxo, gerando outro radical de carbono e um hidroperóxido lipídico (etapa de propagação). O α -tocoferol é capaz de neutralizar radicais peroxil impedindo a propagação da peroxidação lipídica. O radical tocoferoxil formado também é capaz de neutralizar outro radical peroxil, formando produtos não-radicalares (Adaptado de Schneider, 2005).

Os fatores que tornam o α -tocoferol um antioxidante altamente eficiente são (i) o α -tocoferol está inserido na membrana plasmática, onde se encontram os principais substratos da peroxidação lipídica; (ii) a reação entre o radical peroxil e a molécula de α -tocoferol ocorre cerca de mil vezes mais rapidamente do que a reação de oxidação lipídica promovida pelo radical; (iii) a reação com α -tocoferol promove a perda do caráter pró-oxidante do radical peroxil, prevenindo a oxidação de outros ácidos graxos e a conseqüente propagação da peroxidação lipídica; (iv) após a reação com o radical peroxil, o α -tocoferol assume uma forma radicalar (α -tocoferoxil) suficientemente estável; (v) o radical α -tocoferoxil pode reagir com outro radical peroxil, gerando um produto não-radicalar estável. Desta maneira, uma molécula de α -tocoferol impede que duas moléculas de radical peroxil iniciem a peroxidação lipídica, sendo que apenas antioxidantes sintéticos possuem ação antioxidante superior a do α -tocoferol (Schneider, 2005).

Além do seu efeito antioxidante, a vitamina E possui uma marcante atividade antiinflamatória. Estudos clínicos e pré-clínicos têm demonstrado bons resultados da suplementação com α -tocoferol em doenças degenerativas associadas à inflamação crônica como aterosclerose, câncer e doença de Alzheimer (Grundman, 2000; Lee et al., 2005; Reiter et al., 2007). Os mecanismos sugeridos para o efeito antiinflamatório do α -tocoferol envolvem a sua atuação em vias de sinalização celular, inibição/indução enzimática e a regulação da expressão gênica (Munteanu et al., 2004). O α -tocoferol promove a inibição da proteína quinase C (PKC) por ativar a proteína fosfatase 2A, enzima que inibe a auto-fosforilação da PKC. A PKC regula a ativação e a transcrição de diversas proteínas envolvidas em processos inflamatórios como a produção de citocinas, a expressão da enzima ciclooxigenase e a formação de ânion superóxido, uma ERO altamente reativa, pela enzima NADPH oxidase (Traber e Atkinson, 2007). O α -

tocoferol promove ainda a inibição das enzimas ciclooxigenase-2 e 5-lipooxigenase, responsáveis pela síntese de mediadores químicos de processos inflamatórios como prostaglandinas, leucotrienos e citocinas pró-inflamatórias (Reiter et al., 2007). Além disso, esta vitamina inibe a enzima óxido nítrico sintase induzível, responsável pela síntese de óxido nítrico, e ativa a enzima superóxido dismutase, o que contribui com a manutenção do *status* oxidativo da célula (Zingg e Azzi, 2004).

A vitamina E também atua em nível genômico regulando diretamente inúmeros fatores de transcrição denominados de fatores de transcrição responsivos aos tocoferóis. Através deles, o α -tocoferol modula processos como a agregação plaquetária, síntese de colesterol, apoptose e proliferação celular (Munteanu et al., 2004).

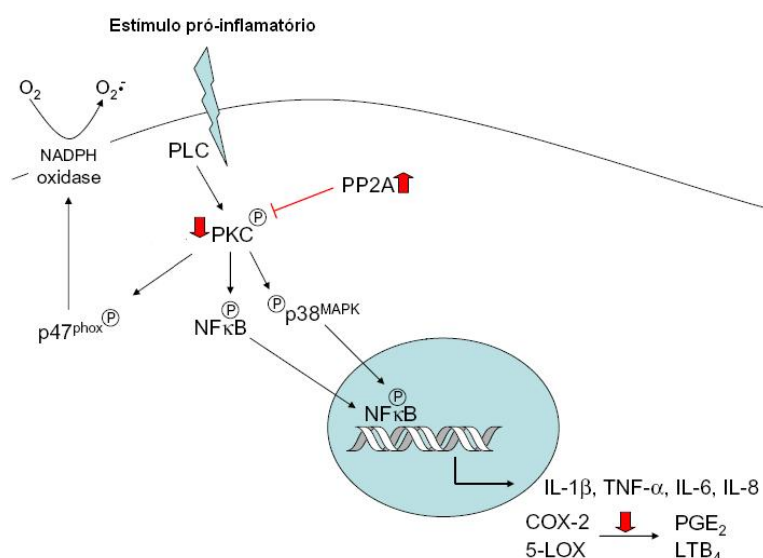


Figura 9. Atividade antiinflamatória do α -tocoferol. O α -tocoferol ativa a proteína fosfatase 2A (PP2A) que por sua vez, inibe a ativação por auto-fosforilação da PKC. Isto interrompe a cascata de sinalização que leva à produção de ânion superóxido pela enzima NADPH oxidase, bem como a ativação do fator nuclear kappa-B (NF- κ B) e a subsequente síntese de citocinas pró-inflamatórias. O α -tocoferol também inibe diretamente as enzimas ciclooxigenase-2 (COX-2) e 5-lipooxigenase (5-LOX) que sintetizam principalmente prostaglandina E2 e leucotrieno B4, respectivamente (Adaptado de Reiter et al., 2007).

1.5.3. Deficiência de vitamina E

A deficiência de vitamina E em humanos ocorre de maneira secundária a distúrbios de má absorção de lipídeos, doenças genéticas no transporte de lipoproteínas

ou na expressão da proteína α -TTP hepática, uma vez que a dose diária recomendada de α -tocoferol (15 mg por dia ou 33 UI de all-rac- α -tocoferol) é facilmente atingida através da dieta (Traber, 2007; Traber et al., 2008). As concentrações plasmáticas de α -tocoferol em indivíduos normais variam de 22 a 28 μ M, sendo que níveis inferiores a 11,6 μ M caracterizam deficiência desta vitamina (Zingg, 2007). Quantidades insuficientes de α -tocoferol provocam inicialmente neuropatia periférica, caracterizada pela perda progressiva da bainha de mielina em neurônios de grande calibre (Sokol et al., 1988; Eggermont, 2006). Os sintomas aparecem precocemente em crianças e em adultos podem levar décadas para se manifestar, porém uma vez estabelecidos são irreversíveis (Schneider, 2005).

A forma mais severa de deficiência de vitamina E é a doença genética chamada “ataxia com deficiência isolada de vitamina E”, causada por anormalidades na ligação ou transferência do α -tocoferol pela α -TTP ou ainda pela ausência da mesma (Traber e Arai, 1999). Os sintomas desencadeados refletem a degeneração espinocerebelar progressiva e severa, sendo os principais: ataxia cerebelar, disartria, ausência de reflexos, perda de sensação proprioceptiva e vibratória, fraqueza muscular, estrabismo e cegueira (Aparício et al., 2001; Eggermont, 2006). Além disso, estudos clínicos e pré-clínicos têm demonstrado que a deficiência está associada à demência e à perda de funções cognitivas semelhantes às encontradas na doença de Alzheimer (Kontush et al., 2004; Eggermont, 2006; Nishida et al., 2006).

O tratamento para a deficiência de vitamina E é a suplementação dos indivíduos com altas doses diárias (1600 mg) de RRR- α -tocoferol, ingerido com alimentação rica em lipídeos (Eggermont, 2006). Este tratamento eleva os níveis plasmáticos de α -tocoferol e leva à estabilização da maioria dos sintomas neurológicos da doença, o que

sugere um importante papel para esta vitamina no sistema nervoso (Schuelke et al., 1999; Ciaroni et al., 2002).

1.5.4. Vitamina E e Depressão

O aumento do estresse oxidativo e/ou a deficiência de defesas antioxidantes podem estar relacionados à depressão (Khanzode et al., 2003; Tsuboi et al., 2006). A literatura relata a ocorrência de baixos níveis séricos de vitamina E em pacientes com depressão (Maes et al., 2000; Owen et al., 2005). Estes estudos sugerem que a deficiência de α -tocoferol contribui para o desequilíbrio oxidativo tornando o indivíduo mais suscetível ao desenvolvimento da depressão, no entanto, existem dúvidas se de fato a deficiência de vitamina E contribui para a patogênese desta doença.

Outras evidências apontam para uma relação entre vitamina E e depressão. Estudos têm demonstrado que a deficiência de vitamina E pode alterar o metabolismo de monoaminas em diferentes regiões do cérebro de ratos (Castaño et al., 1992; 1993a; 1993b; Heslop et al., 1996). Além disso, Xu et al. (2003) mostrou que a suplementação com baixas doses de α -tocoferol provoca uma melhora da memória de ratos submetidos ao modelo de hipóxia crônica, acompanhada de um aumento dos níveis de monoaminas (serotonina, noradrenalina e dopamina) no córtex cerebral, hipocampo e estriado.

Estudos têm sugerido ainda um importante papel neuroprotetor para a vitamina E (de Jesus et al., 2005). A suplementação com α -tocoferol reverte o efeito inibitório do estresse crônico e do envelhecimento sobre a plasticidade sináptica hipocampal e melhora a performance mnemônica em modelos pré-clínicos (Murray e Linch, 1998; Esposito et al., 2002). Além disso, os efeitos antioxidantes desta vitamina podem contribuir com o restabelecimento do equilíbrio entre radicais livres e defesas antioxidantes no SNC associado à doença de Alzheimer, razão pela qual a

suplementação com α -tocoferol tem sido implantada em indivíduos acometidos pela doença, ou ainda em indivíduos idosos normais como medida preventiva (Grundman, 2000; Ricciareli et al., 2007; Isaac et al., 2008).

Adicionalmente, a hipótese inflamatória da depressão postula que citocinas pró-inflamatórias podem desencadear estresse oxidativo, bem como sintomas de depressão (Dantzer et al., 2008). Estudos em roedores mostraram que a suplementação com vitamina E diminui a ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF κ B) e a produção de citocinas pró-inflamatórias no cérebro, levando ainda à atenuação de sintomas tipo-depressivo induzidos pela administração de lipopolissacarídeo (*sickness behavior*), mas nenhum estudo foi conduzido em modelos específicos de depressão (Berg et al., 2004; Godbout et al., 2005).

2. Justificativa

A depressão é uma doença neuropsiquiátrica de alta prevalência, constituindo um grave problema de saúde pública. Esta doença é responsável por consideráveis prejuízos físicos e psicossociais, além de ser fator de risco para o desenvolvimento de doenças arteriais coronarianas e de estar associada a um alto índice de suicídio (Nemeroff e Owens, 2002). Adicionalmente, o tratamento com antidepressivos apresenta efeitos clínicos apenas semanas após o seu início, é de baixa eficácia clínica (Nestler, 2002), podendo ainda causar inúmeros efeitos colaterais que culminam muitas vezes com o abandono do tratamento pelo paciente (Brunello et al., 2002). Desta forma, existe uma grande necessidade do desenvolvimento de terapias antidepressivas alternativas ou de substâncias que possam aumentar a eficácia do tratamento da doença e, desta forma, a qualidade de vida do paciente.

Considerando as crescentes evidências de que o estresse oxidativo está envolvido na fisiopatologia de doenças psiquiátricas; a alta vulnerabilidade do SNC aos danos oxidativos e a estreita relação entre estresse oxidativo, inflamação e sintomas de depressão; a investigação do potencial antidepressivo da vitamina E, uma substância com ação antioxidante e antiinflamatória bem estabelecidas, se justifica. Além disso, o estudo da ação antidepressiva de diversos compostos endógenos, incluindo a vitamina E, e de seus mecanismos de ação é importante para a compreensão dos mecanismos de regulação endógena dos estados de humor e para contribuir para o futuro desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da depressão.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Investigar o efeito antidepressivo da vitamina E em dois modelos animais preditivos de ação antidepressiva, o TNF e o TSC, bem como avaliar o envolvimento dos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico, glutamatérgico e da via L-arginina-óxido nítrico no mecanismo de ação antidepressiva desta vitamina no TNF.

3.2. Objetivos específicos

- Verificar o efeito de doses crescentes de α -tocoferol administrado pela via oral (p.o.) no TNF, no TSC e no teste do campo aberto (TCA) em camundongos;
- Verificar o efeito do fosfato de α -tocoferol (forma hidrossolúvel da vitamina E) administrado por via intracerebroventricular (i.c.v.) no TNF, no TSC e no TCA em camundongos;
- Verificar o efeito do tratamento crônico com α -tocoferol (p.o.) no TNF e TCA;
- Investigar o efeito do tratamento crônico com α -tocoferol (p.o.), comparado à fluoxetina, sobre parâmetros bioquímicos de avaliação de estresse oxidativo no córtex cerebral e hipocampo de camundongos;
- Investigar o envolvimento dos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico, glutamatérgico e da via L-arginina-óxido nítrico na ação antidepressiva do α -tocoferol no TNF.

4. Materiais e Métodos

4.1. Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* adultos de ambos os sexos, pesando entre 35 e 45g e mantidos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ com livre acesso a água e comida, em ciclo claro/escuro 12:12 horas (7:00-19:00 h). Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e mantidos no biotério setorial nas mesmas condições. Todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSC (CEUA).

4.2. Testes comportamentais

4.2.1. Teste do Nado Forçado

O TNF é um dos modelos comportamentais mais utilizados para detectar atividade antidepressiva de fármacos. O método original foi descrito por Porsolt (1977) e baseia-se na observação de que quando os animais são submetidos a uma situação onde não há possibilidade de escape, após um período de agitação inicial eles adotam uma postura de imobilidade. O camundongo é considerado imóvel quando flutua ou faz apenas movimentos necessários para manter sua cabeça acima da água. O tempo de imobilidade foi cronometrado durante 6 minutos em um cilindro plástico de 10 cm de diâmetro e 24 cm de altura contendo 19 cm de altura de água, à temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. A redução no tempo de imobilidade é o efeito observado após a administração aguda de várias classes de fármacos antidepressivos (Porsolt et al., 1977).

4.2.2. Teste de Suspensão da Cauda

O tempo total de duração da imobilidade foi avaliado de acordo com o método descrito por Steru et al. (1985). Os camundongos, acústica e visualmente isolados,

foram suspensos 50 cm acima do chão por fita adesiva e o tempo de imobilidade foi registrada durante 6 minutos (Machado et al., 2007). Os antidepressivos reduzem o tempo de imobilidade neste teste (Steru et al., 1985).

4.2.3. Teste do Campo Aberto

Este modelo foi proposto por Hall (1936) para a avaliação da atividade locomotora dos animais. O aparato consiste em uma caixa de madeira medindo 40x60x50 cm, com o chão dividido em 12 quadrantes iguais. O número de quadrantes cruzados em um período de 6 minutos é o parâmetro utilizado para avaliar a atividade locomotora (Rodrigues et al., 1996). Como fármacos que apresentam um efeito psicoestimulante podem produzir um resultado “falso positivo” no TNF, o teste do campo aberto é imprescindível para se determinar a especificidade do efeito antidepressivo.

4.3. Drogas e Tratamentos

4.3.1. Vias de administração

Os compostos utilizados foram administrados pelas vias oral (p.o.), intraperitoneal (i.p.) e subcutânea (s.c.) em um volume de 10 ml/kg, ou ainda pela via intracerebroventricular (i.c.v.), em um volume constante de 5 µl/sítio. Para administração i.c.v. foi utilizada uma agulha de 0,4 mm de diâmetro conectada por uma cânula de propileno a uma seringa Hamilton de 25 µl. A agulha foi inserida perpendicularmente no crânio, diretamente no ventrículo lateral, utilizando-se o bregma como referência. A fim de se verificar o local exato da injeção, os animais foram dissecados e analisados macroscopicamente após os testes (Kaster et al., 2007a).

4.3.2. Avaliação do efeito antidepressivo do α -tocoferol em modelos animais preditivos de ação antidepressiva

Para a obtenção das curvas dose-resposta do α -tocoferol no TNF e no TSC foram utilizados: fosfato de (\pm)- α -tocoferol, DL-all-rac- α -tocoferol (Sigma Chemical Co, USA) e fluoxetina. Para investigar o efeito da administração aguda de vitamina E, o α -tocoferol foi diluído em óleo mineral com 10% de álcool etílico e o fosfato de α -tocoferol foi diluído em solução salina. Para investigar o efeito do tratamento crônico com vitamina E, o α -tocoferol foi diluído em óleo de milho com 10% de álcool etílico. A fluoxetina foi diluída em água destilada. Os grupos controle receberam o veículo apropriado.

A fim de investigar o possível efeito antidepressivo produzido pela administração sistêmica de vitamina E, os animais foram tratados com doses crescentes de α -tocoferol (10 – 300 mg/kg p.o.) e após 60 minutos, submetidos ao TNF, TSC ou TCA. Alternativamente, com o objetivo de verificar se o efeito obtido com a administração sistêmica de α -tocoferol é devido a sua entrada no SNC, os animais foram tratados com doses crescentes de fosfato de α -tocoferol (0,01–10 nmol/sítio, i.c.v., forma hidrossolúvel da vitamina E) e 15 minutos depois submetidos aos testes comportamentais. Os animais controle foram tratados com os respectivos veículos.

4.3.3. Avaliação do mecanismo de ação antidepressiva do α -tocoferol no TNF

4.3.3.1. Envolvimento do sistema serotoninérgico

Os seguintes compostos foram utilizados: fluoxetina, pindolol, p-clorofenilalanina metil éster (PCPA), N-{2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil}-N-(2-piridinil)ciclohexanocarboxamida (WAY100635), (Sigma Chemical Company, St.

Louis, MO, U.S.A.). Todos os compostos foram dissolvidos em salina (NaCl 0,9%) e administrados por via i.p., exceto o pindolol que foi dissolvido em salina com 1% de Tween 80 e o WAY 100635 que foi administrado por via s.c. A fluoxetina foi diluída em água destilada e administrada por via oral. Os grupos controle receberam o veículo apropriado.

A fim de se investigar uma possível contribuição do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol os animais foram pré-tratados com PCPA (100 mg/kg, um inibidor da síntese de 5-HT, uma vez por dia, por 4 dias consecutivos). Vinte e quatro horas após a última injeção de PCPA, os animais foram tratados com α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) ou veículo. Após 60 minutos os animais foram submetidos ao TNF. Alternativamente, para investigar a participação dos receptores 5-HT_{1A} no efeito antidepressivo do α -tocoferol, os animais foram pré-tratados com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e após 30 minutos receberam WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c., antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A}) ou pindolol (32 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT_{1A}/receptores β -adrenérgicos). Decorridos 30 minutos os animais foram submetidos ao TNF ou ao TCA. O protocolo experimental e as doses dos antagonistas foram escolhidas de acordo com o estudo prévio de Kaster et al. (2005a).

Para investigar um possível efeito sinérgico entre o α -tocoferol e o antidepressivo clássico fluoxetina, os animais foram tratados com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e imediatamente depois receberam uma dose sub-ativa de fluoxetina (10 mg/kg, p.o., inibidor seletivo da recaptação de serotonina). Após 60 minutos os animais foram submetidos ao TNF ou ao TCA, conforme descrito por Brocardo et al. (2008a).

4.3.3.2. Envolvimento do sistema noradrenérgico

Os seguintes compostos foram utilizados: clonidina, desipramina, fenilefrina, ioimbina, prazosina e propranolol (Sigma Chemical Co, USA). Todos os compostos foram dissolvidos em salina (NaCl 0,9%) e administrados por via i.p., exceto a desipramina que foi diluída em água destilada e administrada por via oral. Os grupos controle receberam o veículo apropriado.

A fim de investigar a participação do sistema noradrenérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol, os animais foram pré-tratados com prazosina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores α_1 -adrenérgicos), ioimbina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos) ou propranolol (2 mg/kg, i.p., antagonista de receptores β -adrenérgicos) trinta minutos antes de serem tratados com α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.). Decorridos sessenta minutos os animais foram submetidos ao TNF. Alternativamente, os animais foram tratados com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e após trinta minutos doses sub-ativas de fenilefrina (5 mg/kg, i.p., agonista de receptores α_1 -adrenérgicos) ou clonidina (0,06 mg/kg, i.p., agonista de receptores α_2 -adrenérgicos) foram administradas. Decorridos trinta minutos os animais foram submetidos ao TNF ou ao TCA. O protocolo experimental e as doses dos antagonistas foram escolhidas de acordo com estudos prévios (Kaster et al., 2007b; Machado et al., 2007).

Para investigar um possível efeito sinérgico entre o α -tocoferol e o antidepressivo clássico desipramina, os animais foram tratados com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e imediatamente depois receberam uma dose sub-ativa de desipramina (8 mg/kg, p.o., antidepressivo tricíclico com maior seletividade para a inibição da recaptação de noradrenalina). Após 60 minutos os animais foram submetidos ao TNF ou ao TCA.

4.3.3.3. Envolvimento do sistema glutamatérgico

Os seguintes compostos foram utilizados: D-serina (Tocris), MK-801, N-metil-D-aspartato (NMDA) (Sigma Chemical Co, USA).

A fim de verificar a influência do sistema glutamatérgico na ação antidepressiva do α -tocoferol, os animais foram pré-tratados com NMDA (0,1 pg/sítio, agonista seletivo de receptores glutamatérgicos do subtipo NMDA, dose que não produz convulsão) ou D-serina (30 μ g/sítio, agonista do sítio da glicina dos receptores NMDA). Decorridos 15 min os animais foram tratados com α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) e submetidos ao TNF após 60 minutos. Alternativamente, para verificar a existência de um possível efeito sinérgico entre o α -tocoferol e antagonistas de receptores NMDA, uma dose sub-ativa de MK801 (0,001 mg/kg, i.p., antagonista não competitivo de receptores NMDA) foi administrada 30 minutos após o tratamento dos animais com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.). Após 30 minutos o TNF ou o TCA foram realizados. O protocolo experimental e as doses foram escolhidos de acordo com estudos prévios (Rosa et al., 2003; Brocardo et al., 2008b).

4.3.3.4. Envolvimento da via L-arginina-óxido nítrico

Os seguintes compostos foram utilizados: L-arginina, N^G-nitro-L-arginina (L-NNA), azul de metileno, [1H-[1,2,4]Oxadiazol[4,3-a]quinoxalin-1-one] (ODQ), S-nitroso-N-acetil-penicilamina (SNAP) e sildenafil (Sigma Chemical Co, USA). Os fármacos foram diluídos em salina (NaCl 0,9%) exceto o ODQ, que foi dissolvido em salina com 1% de DMSO. A via de administração utilizada foi a i.p., exceto o SNAP e o ODQ, que foram administrados por via i.c.v.

Com o objetivo de verificar a participação da via L-arginina-óxido nítrico sobre a atividade antidepressiva do α -tocoferol, os animais foram pré-tratados com L-arginina

(750 mg/kg, i.p., precursor de óxido nítrico, NO), sildenafil (5 mg/kg, i.p., inibidor seletivo da fosfodiesterase do tipo V, PDE-V) e SNAP (25 µg/sítio, i.c.v., doador de NO). Trinta minutos após a administração de L-arginina e sildenafil ou 15 minutos após a administração de SNAP os animais receberam α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.). Após 60 minutos, os animais foram submetidos ao TNF.

Adicionalmente, os animais foram pré-tratados com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e após 30 minutos receberam L-NNA (0,03 mg/kg, i.p., inibidor da NOS) ou azul de metileno (18 mg/kg, i.p., inibidor da óxido nítrico sintase, NOS e da GC). Decorridos 30 minutos os animais foram testados no TNF ou TCA. Alternativamente, os animais foram pré-tratados com α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e decorridos 45 minutos, receberam a injeção de ODQ (30 pmol/sítio, i.c.v., inibidor da guanilato ciclase, GC). Após 15 minutos os animais foram submetidos ao TNF ou ao TCA.

O protocolo experimental e as doses foram escolhidos de acordo com estudos prévios (Kaster et al., 2005b; Brocardo et al., 2008b).

4.4. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol no TNF e no sistema de defesa antioxidante da glutathiona

A fim de investigar o possível efeito antidepressivo da administração crônica de α -tocoferol, os animais foram tratados durante quatro semanas com doses crescentes de α -tocoferol (10-100 mg/kg, p.o.) ou fluoxetina (10 mg/kg, p.o.). Vinte e quatro horas após o último tratamento os animais foram submetidos ao TNF ou ao TCA.

4.5. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol no sistema de defesa antioxidante da glutathione

Decorridas 24 h dos testes comportamentais (TNF ou TCA) para avaliação do efeito antidepressivo do tratamento crônico com α -tocoferol, os animais foram decapitados e os hipocampus e os córtices cerebrais utilizados para a dosagem do conteúdo de glutathione e das atividades das enzimas antioxidantes glutathione peroxidase e glutathione redutase.

4.5.1. Determinação de glutathione total

Para a determinação de glutathione total (GSH-t), os tecidos foram homogeneizados em ácido perclórico 0,5M. Os homogenatos foram centrifugados a 15.000 g durante dois minutos e o sobrenadante separado, neutralizado em tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 7,4) e utilizado para o ensaio. O método utilizado é enzimático e foi originalmente descrito por Tietze (1969), e posteriormente modificado por Akerboom e Sies (1981). Consiste em um método cíclico que detecta tanto a forma oxidada (GSSG) quanto à forma reduzida (GSH) da glutathione, o que então é definido como GSH-t. O reagente de Ellman, DTNB, reage espontaneamente com GSH formando o ânion colorido TNB e o conjugado GS-TNB, incolor. A GR cliva este conjugado e utiliza NADPH como co-fator, resultando em GSH e TNB, desenvolvendo mais cor. A GSH reage novamente com DTNB reiniciando o ciclo. Caso haja presença de GSSG, esta é primeiramente reduzida a GSH pela ação da enzima glutathione redutase (GR) e, em seguida, entra no ciclo. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 412 nm por 1-4 min. Neste ensaio, o meio de reação consistia de tampão fosfato de potássio 0,1 M, 1 mM EDTA, DTNB 0,1 mM; NADPH 0,2 mM. Após a adição da amostra ou do padrão, iniciava-se a reação pela adição da GR 0,2 U/mL. A concentração de GSH-t

foi obtida pela comparação das absorbâncias das amostras com a absorbância de uma curva padrão de GSSG (0,1-1,0 nmol/mL). A reação basal, sem a presença de GSSG ou amostra, foi descontada do delta de absorbância por minuto obtido na presença do padrão ou da amostra. O valor obtido foi multiplicado pelas diluições.

4.5.2. Determinação da atividade das enzimas GR e GPx

Para a determinação da atividade das enzimas envolvidas no ciclo da glutathiona, os tecidos foram homogeneizados em tampão HEPES (20 mM, pH 7,0) e centrifugados a 20.000g durante 30 minutos (centrifuga refrigerada a 4°C). A atividade enzimática foi determinada no sobrenadante em espectrofotômetro Varian Cary 50.

A GPx catalisa a redução de H_2O_2 , bem como de outros lipoperóxidos, utilizando a glutathiona reduzida (GSH) como co-substrato para esta reação e produzindo glutathiona oxidada (GSSG). A GSSG é reduzida pela glutathiona redutase com o consumo de NADPH, que pode ser acompanhado espectrofotometricamente em 340 nm (Wendel, 1981; Flohé e Günzler, 1984). Para este ensaio, o meio de reação continha tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, EDTA 1 mM, GSH 1mM, NADPH 0,1 mM. Adicionou-se a amostra neste meio para mensurar o consumo inespecífico de NADPH através de uma leitura por 2-4 minutos a 340 nm. Ao decréscimo de absorbância (340 nm) por minuto obtido descontou-se o consumo inespecífico de NADPH. O valor obtido foi dividido pelo coeficiente de extinção molar de NADPH ($\epsilon = 6,22 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e multiplicado pelas diluições.

A GR catalisa a redução da glutathiona oxidada (GSSG) através da oxidação do NADPH. Ao utilizar o substrato GSSG a enzima leva ao consumo de NADPH, que é acompanhado espectrofotometricamente em 340 nm ($\epsilon = 6,22 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A velocidade de consumo de NADPH, em condições de saturação, expressa a atividade enzimática

(Calberg e Mannervik, 1985). O meio de reação continha tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, EDTA 1 mM, NADPH 0,2 mM. Após adicionar a amostra, o consumo inespecífico de NADPH foi mensurado por 2-4 min a 340 nm. Ao adicionar o substrato GSSG 1 mM a leitura foi realizada por 2-4 min adicionais e do decaimento por minuto obtido descontou-se o consumo inespecífico de NADPH. O valor obtido foi dividido pelo coeficiente de extinção molar de NADPH ($\epsilon = 6,22 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e multiplicado pelas diluições.

O conteúdo de proteínas foi quantificado pelo método de Bradford (1976). A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 595 nm usando albumina de soro bovino como padrão.

4.6. Análise estatística

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), de uma ou duas vias (de acordo com o protocolo experimental), seguido pelo *post-hoc* de Tukey HSD quando apropriado. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo.

5. Resultados

5.1. Efeito da administração aguda de vitamina E no tempo de imobilidade dos animais TNF e no TSC

A **Figura 10** mostra que a administração sistêmica (p.o.) de α -tocoferol, nas doses de 30 e 100 mg/kg, produziu uma redução no tempo de imobilidade dos animais do TNF (painel A) e no TSC (painel B), sem provocar alteração na atividade locomotora dos animais no TCA (painel C).

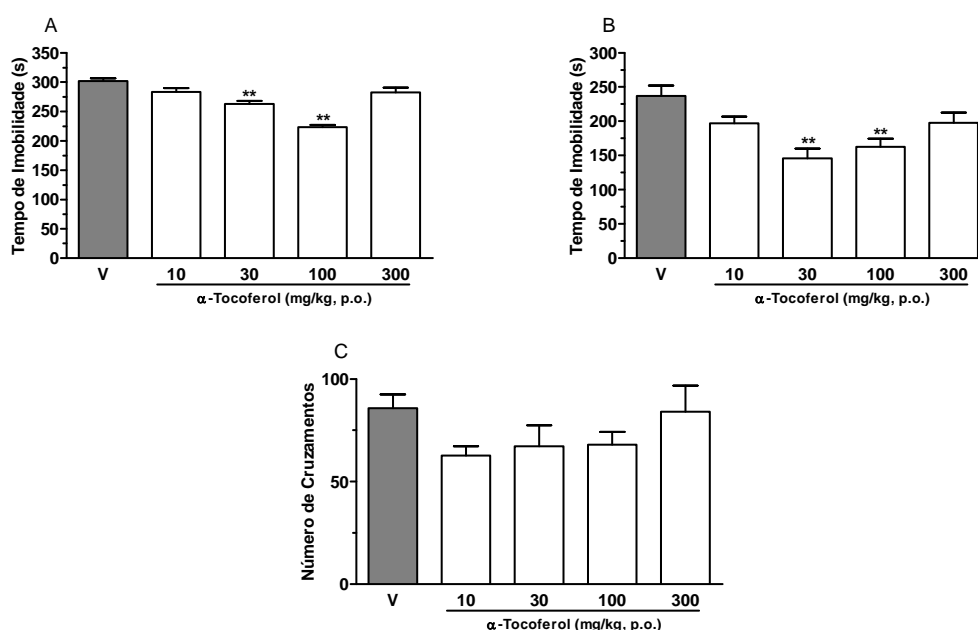


Figura 10. Efeito da administração sistêmica de α -tocoferol (10 - 300 mg/kg, p.o.) no TNF (A), TSC (B) e TCA (C). Os valores estão expressos como média + E.P.M (N= 6-7). ** $P < 0.01$ quando comparado aos animais tratados com veículo (V). Resultados avaliados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD.

A) [$F_{(4,28)} = 30,06$; $P < 0,01$];

B) [$F_{(4,25)} = 7,04$; $P < 0,01$];

C) [$F_{(4,27)} = 0,77$; $P = 0,55$].

Os resultados da **Figura 11** mostram que a administração central (i.c.v.) de fosfato de α -tocoferol foi efetiva em reduzir o tempo de imobilidade dos animais no TNF (nas doses de 0,1 e 1 nmol/sítio, painel A) e no TSC (na dose de 0,1 nmol/sítio, painel B), sem provocar alteração na atividade locomotora dos animais no TCA (painel C).

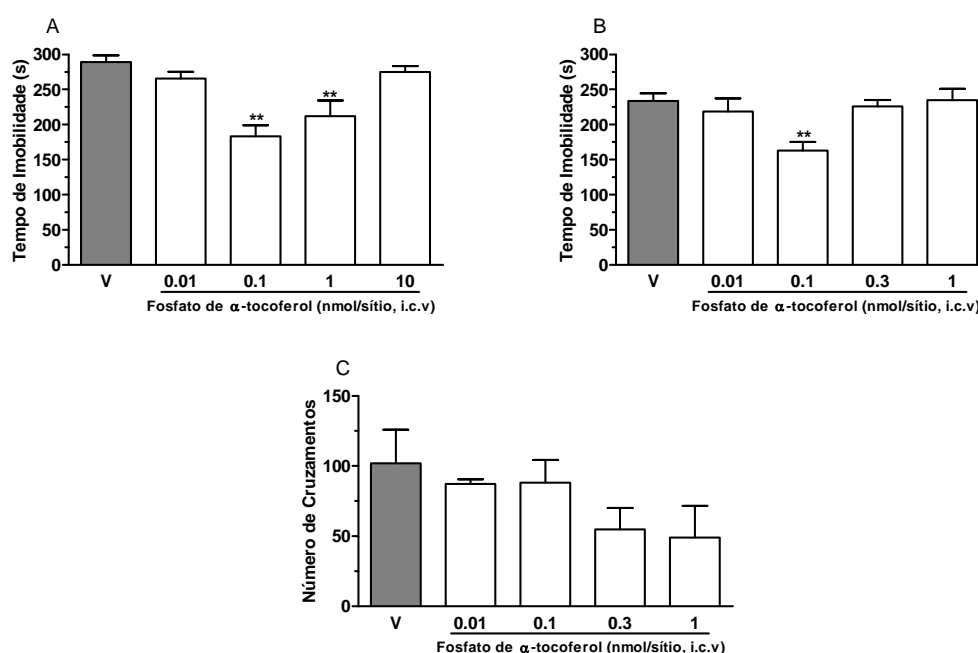


Figura 11. Efeito da administração central de α -tocoferol (0,01 - 10 nmol/sítio, i.c.v.) no TNF (A), TSC (B) e TCA (C). Os valores estão expressos como média + E.P.M (N= 6-8). ** $P < 0.01$ quando comparado aos animais tratados com veículo (V). Resultados avaliados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD.

A) [F(4,25) = 10,06; $P < 0,01$];

B) [F(4,30) = 5,77; $P < 0,01$];

C) [F(4,25) = 1,66; $P = 0,19$].

5.2. Efeito da administração crônica de vitamina E no tempo de imobilidade dos animais no TNF e no TCA

Os resultados da **Figura 12** mostram que o tratamento crônico (28 dias) com α -tocoferol na dose de 10 mg/kg (p.o.) provocou uma redução no tempo de imobilidade no TNF (painel A) de maneira semelhante ao tratamento crônico com fluoxetina na dose de 10 mg/kg (p.o., painel B).

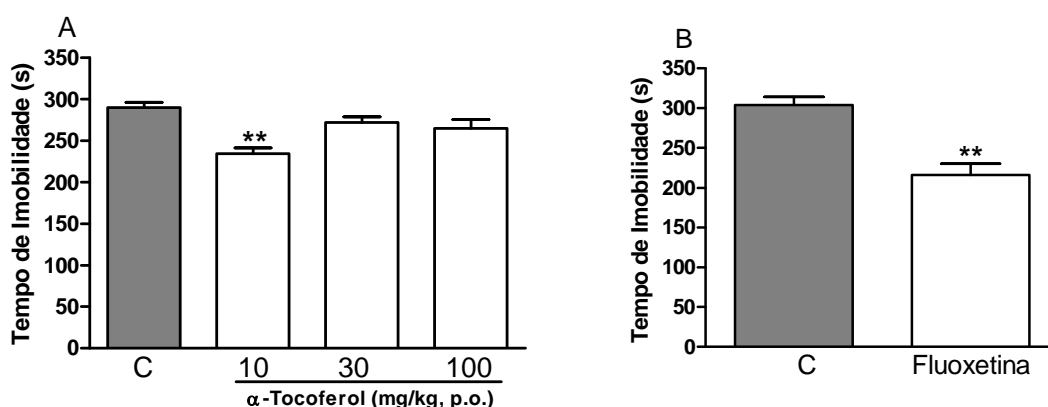


Figura 12. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol (10 – 100 mg/kg, p.o., painel A) ou fluoxetina (10 mg/kg, painel B) no TNF. Os valores estão expressos como média + E.P.M (N= 6-7). ** $P < 0.01$ quando comparado aos animais tratados com veículo (V) ou água destilada (A). Resultados avaliados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD.

A) [F(3,21) = 8,53; $P < 0,01$];

B) [F(1,12) = 28,65; $P < 0,01$].

Como mostra a **Figura 13**, o efeito tipo antidepressivo provocado pela administração de vitamina E (painel A) ou fluoxetina (painel B) é específico, uma vez que não houve alteração significativa na atividade locomotora dos animais no TCA.

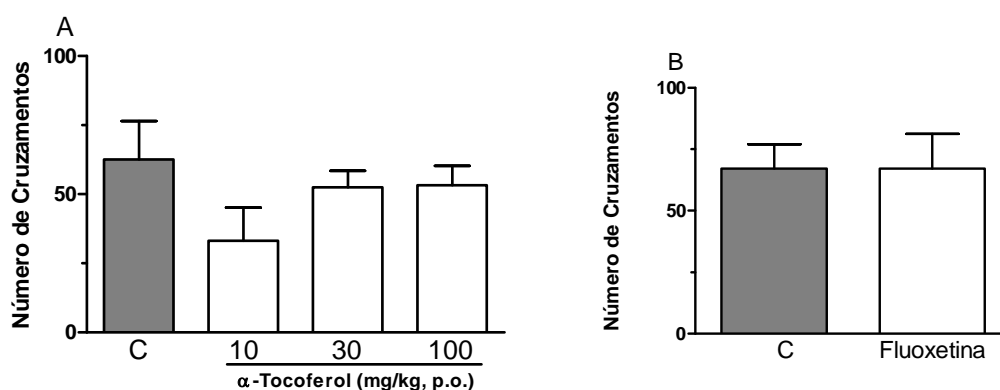


Figura 13. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol (10 – 100 mg/kg, p.o., painel A) ou fluoxetina (10 mg/kg, painel B) no TCA. Os valores estão expressos como média + E.P.M (N= 6-7). ** $P < 0.01$ quando comparado aos animais tratados com veículo (V) ou água destilada (A). Resultados avaliados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD.

A) [F(3,21) = 1,46; $P = 0,25$];

B) [F(1,11) = 0,08; $P = 0,77$].

5.3. Efeito da administração crônica de vitamina E no sistema de defesa antioxidante da glutathione

Os resultados da **Figura 14** mostram que o tratamento crônico (28 dias) com α -tocoferol ou com fluoxetina na dose de 10 mg/kg (p.o.), provocou um aumento nos níveis de GSH no hipocampo (painel A e B, respectivamente). O tratamento com α -tocoferol na dose de 10 mg/kg, aumentou a atividade da enzima GPx (painel C) e da enzima GR (painel E) no hipocampo dos camundongos. O tratamento com fluoxetina não alterou a atividade das enzimas GPx (painel D) e GR (painel F) nesta estrutura.

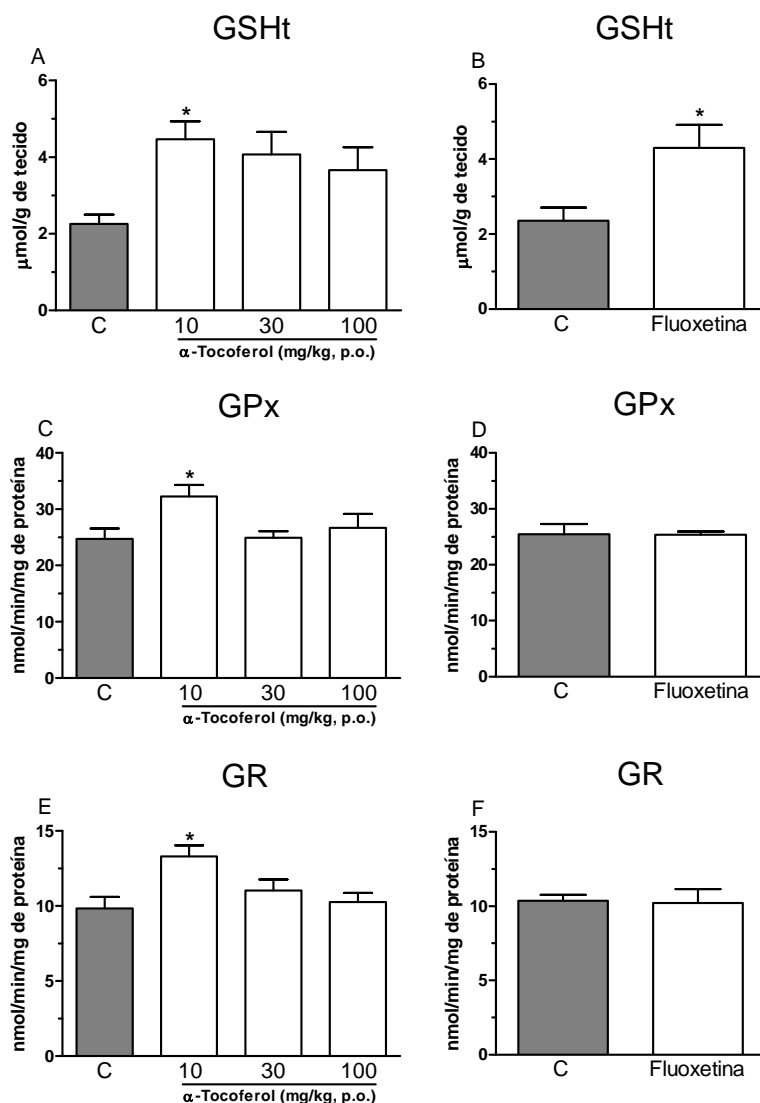


Figura 14. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol (10-100 mg/kg) no sistema de defesa antioxidante da glutathiona no hipocampo. Efeito do tratamento com α -tocoferol ou com fluoxetina (10 mg/kg) sobre os níveis de GSH no hipocampo de camundongos (painel A e B, respectivamente). Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol ou fluoxetina na atividade da enzima GPx (painel C e D) e GR (painel E e F) no hipocampo. Os valores estão expressos como média + E.P.M. (N= 6-8). *P<0,05 quando comparado aos animais tratados com veículo (C). Resultados avaliados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD.

A) [F(3,21) = 4,10; P < 0,05];

B) [F(1,12) = 8,33; P < 0,05];

C) [F(3,22) = 3,55; P < 0,05];

D) [F(1,10) = 0,00, P = 0,97];

E) [F(3,20) = 4,60; P < 0,05];

F) [F(1,10) = 0,05; P = 0,83].

Os resultados da **Figura 15** mostram que o tratamento crônico (28 dias) com α -tocoferol (10 mg/kg, p.o), mas não com fluoxetina, provocou um aumento nos níveis de GSH no córtex pré-frontal (painel A e B, respectivamente). O tratamento com α -tocoferol nas doses de 10-100 mg/kg, aumentou a atividade da enzima GPx (painel C) e da enzima GR (painel E) no córtex pré-frontal dos camundongos. O tratamento com fluoxetina não alterou a atividade das enzimas GPx (painel D) e GR (painel F) nesta estrutura.

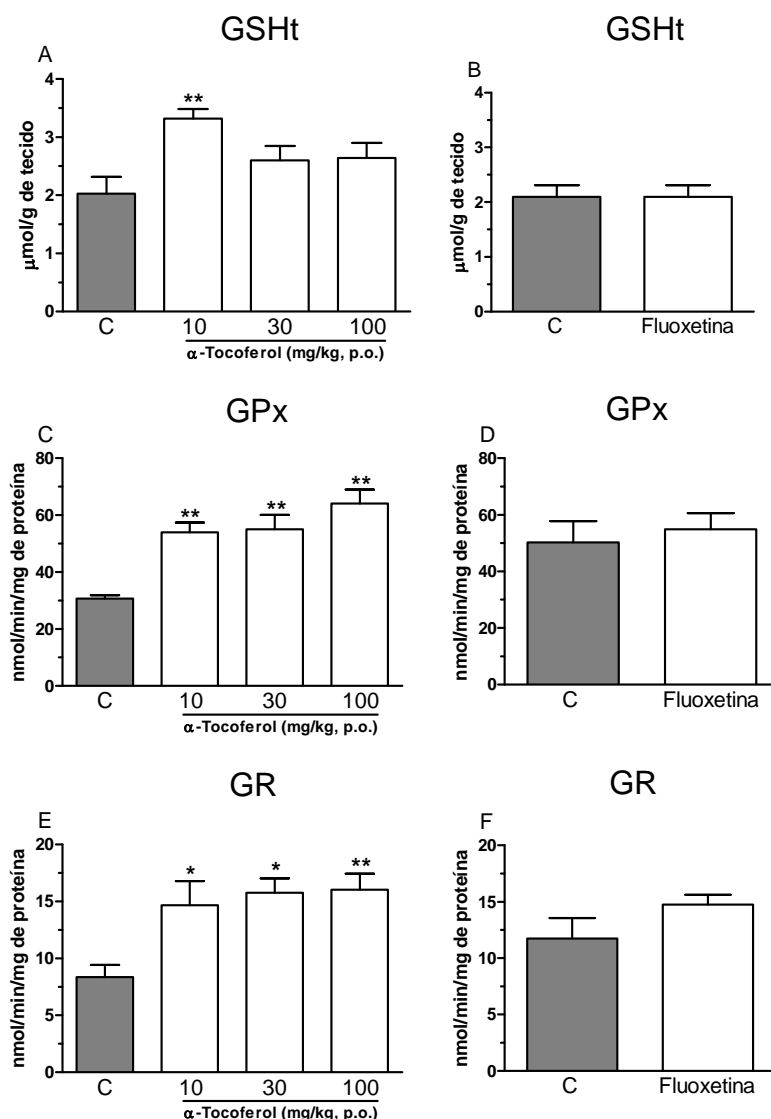


Figura 15. Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol (10-100 mg/kg) no sistema de defesa antioxidante da glutathiona no córtex pré-frontal de camundongos. Efeito do tratamento com α -tocoferol nas doses de 10-100 mg/kg, mas não com fluoxetina, em aumentar os níveis de GSH no córtex pré-frontal de camundongos (painel A e B, respectivamente). Efeito do tratamento crônico com α -tocoferol ou fluoxetina na atividade da enzima GPx (painel C e D) e GR (painel E e F) no córtex pré-frontal. Os valores estão expressos como média + E.P.M (N= 6-8). * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$ quando comparado aos animais tratados com veículo (C). Resultados avaliados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD.

- A) [F(3,22) = 4,17; $P < 0,05$];
 B) [F(1,11) = 3,45; $P = 0,09$];
 C) [F(3,20) = 12,89; $P < 0,01$];
 D) [F(1,10) = 0,24; $P = 0,63$];
 E) [F(3,21) = 6,28; $P < 0,01$];
 F) [F(1,12) = 1,78; $P = 0,21$].

5.4. Efeito antidepressivo da administração aguda de α -tocoferol no teste do nado forçado: mecanismo de ação

5.4.1. Envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF

A **Figura 16** mostra que o pré-tratamento com p-clorofenilalanina metil-éster (PCPA, 100 mg/kg, i.p., inibidor da síntese de 5-HT) por quatro dias consecutivos foi efetivo em prevenir o efeito antidepressivo do α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF.

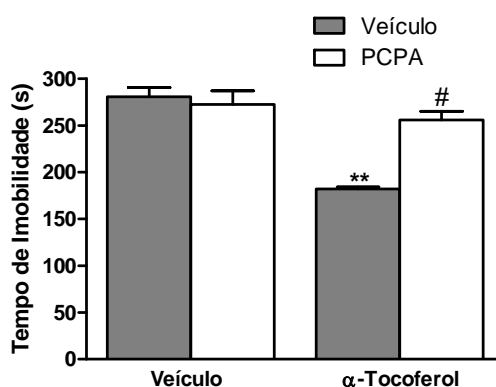


Figura 16. Efeito do pré-tratamento com o inibidor da síntese de 5-HT, PCPA (100 mg/kg, i.p., por 4 dias consecutivos) na ação antidepressiva do α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF. Os valores estão expressos com média + E.P.M. (N=6). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo; # $P < 0,01$ em relação ao mesmo grupo pré-tratado com veículo.

Pré-tratamento [$F(1,20) = 10,61$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,20) = 32,88$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 16,71$; $P < 0,01$].

A **Figura 17A** mostra que o tratamento com WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c., antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A}) foi efetivo em potencializar o efeito de uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF. A **Figura 17B** mostra que a administração de WAY100635 *per se* ou em combinação com α -tocoferol não afetou a atividade locomotora dos animais no TCA.

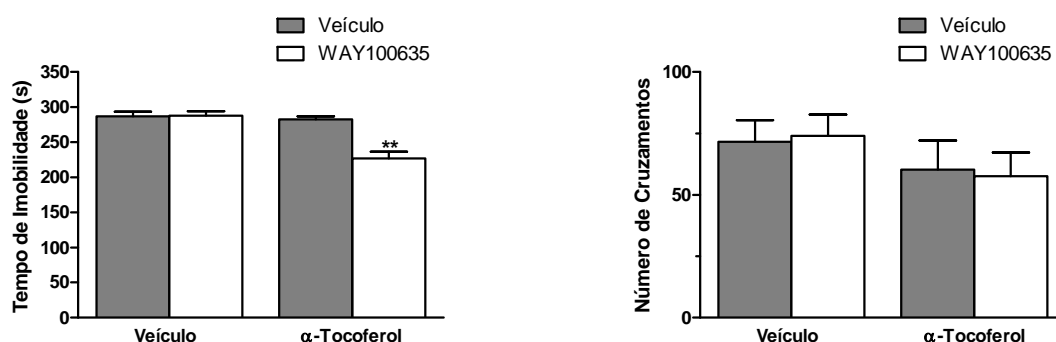


Figura 137. Efeito do tratamento com WAY100635 (0,1 mg/kg, s.c.) em potencializar a ação antidepressiva do α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF (painel A), sem causar nenhuma alteração na atividade locomotora no TCA (painel B). Os valores estão expressos com média + E.P.M. (N=6-9). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,25) = 19,18$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,25) = 13,65$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,25) = 14,32$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 1,98$; $P = 0,17$], tratamento [$F(1,20) = 0,00$; $P = 1,00$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 0,06$; $P = 0,80$].

A **Figura 18** mostra que a administração de pindolol (32 mg/kg, i.p., agonista de receptores 5-HT_{1A/1B} / antagonista de receptores β -adrenérgicos) potencializa a ação de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF (painel A), sem provocar alteração na atividade locomotora dos animais no TCA (painel B).

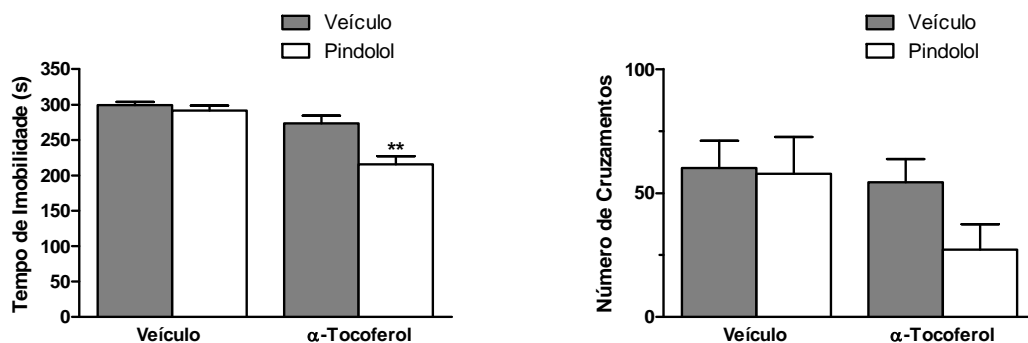


Figura 18. Efeito do tratamento com pindolol (32 mg/kg, i.p.) combinado com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF (painel A) e no TCA (painel B). Os valores estão expressos com média + E.P.M. (N=6-8). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,25) = 10,89$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,25) = 25,08$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,25) = 13,73$; $P < 0,05$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 2,47$; $P = 0,13$], tratamento [$F(1,20) = 1,61$; $P = 0,22$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 1,14$; $P = 0,30$].

A **Figura 19A** mostra o efeito sinérgico da co-administração de doses sub-ativas de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e fluoxetina (10 mg/kg, p.o., inibidor seletivo da recaptação de serotonina) no tempo de imobilidade no TNF. A **Figura 19B** mostra que a administração de fluoxetina *per se* ou em combinação com α -tocoferol não afetou a atividade locomotora no campo aberto.

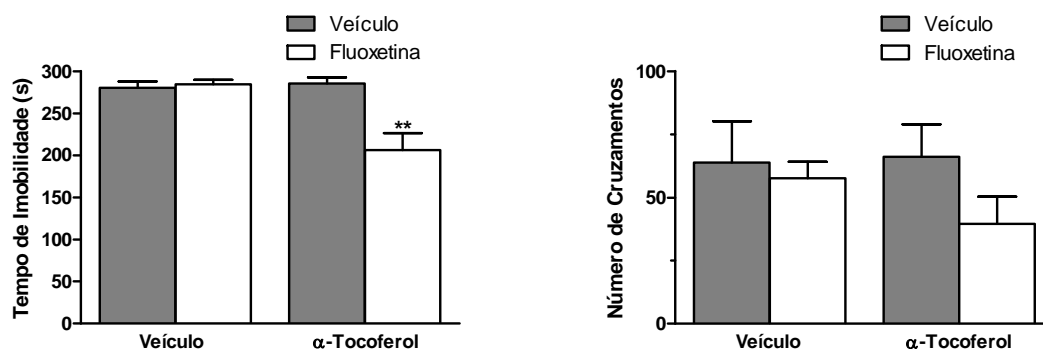


Figura 19. Efeito da co-administração de doses sub-ativas de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e fluoxetina (10 mg/kg, p.o.) no tempo de imobilidade no TNF (painel A) e na atividade locomotora no TCA (painel B). Os valores estão expressos com média + E.P.M. (N=6-7). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HDS. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,21) = 8,13$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 8,81$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 10,77$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,22) = 1,66$; $P = 0,21$], tratamento [$F(1,22) = 0,38$; $P = 0,54$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,22) = 0,64$; $P = 0,43$].

5.4.2. Envolvimento do sistema noradrenérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF

Conforme demonstrado na **Figura 20**, o pré-tratamento dos animais com o prazosina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores α_1 -adrenérgicos, painel A) ou ioimbina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos, painel B) mas não com propranolol (2 mg/kg, i.p., antagonista de receptores β -adrenérgicos, painel C), foi capaz de reverter o efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF.

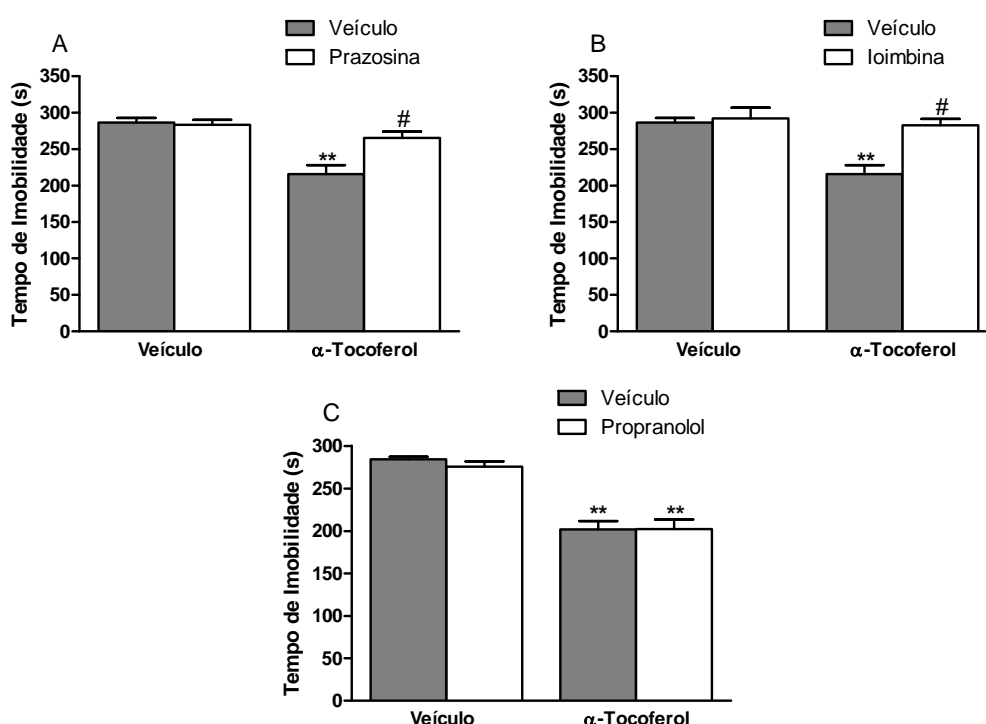


Figura 20. Efeito do pré-tratamento com prazosina (1 mg/kg, i.p., painel A) ou ioimbina (1 mg/kg, i.p., painel B) na redução do tempo de imobilidade causada pelo α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF. Os valores estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo; # $P < 0,01$ em relação ao mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,20) = 6,78$; $P < 0,05$], tratamento [$F(1,20) = 25,39$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 8,87$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,21) = 17,60$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 21,50$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 12,82$; $P < 0,01$].

C) Pré-tratamento [$F(1,20) = 0,25$; $P = 0,62$], tratamento [$F(1,20) = 88,000$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 0,29$; $P = 0,59$].

Os resultados da **Figura 21** mostram que o tratamento dos animais com fenilefrina (5 mg/kg, i.p., agonista de receptores α_1 -adrenérgicos) potencializou o efeito de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF (painel A), sem causar alteração na atividade locomotora dos animais no TCA (painel B).

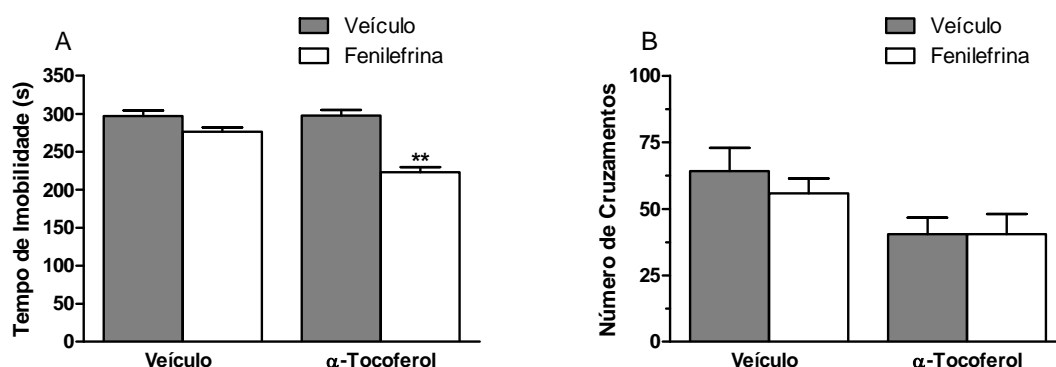


Figura 21. Efeito da administração de fenilefrina (5 mg/kg, i.p.) com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg) no TNF (painel A) e no TCA (painel B). Os valores estão expressos como média + E.P.M. (N= 6-8). Os valores estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-11). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,28) = 14,89$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,28) = 48,20$; $P < 0,01$], e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,28) = 15,46$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 7,63$; $P = 0,01$]; tratamento [$F(1,20) = 0,35$; $P = 0,56$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 0,35$; $P = 0,56$].

A **Figura 22** mostra que a administração de clonidina (0,06 mg/kg, i.p., agonista de receptores α_2 -adrenérgicos) potencializa a ação de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF (painel A), sem provocar alteração na atividade locomotora dos animais no TCA (painel B).

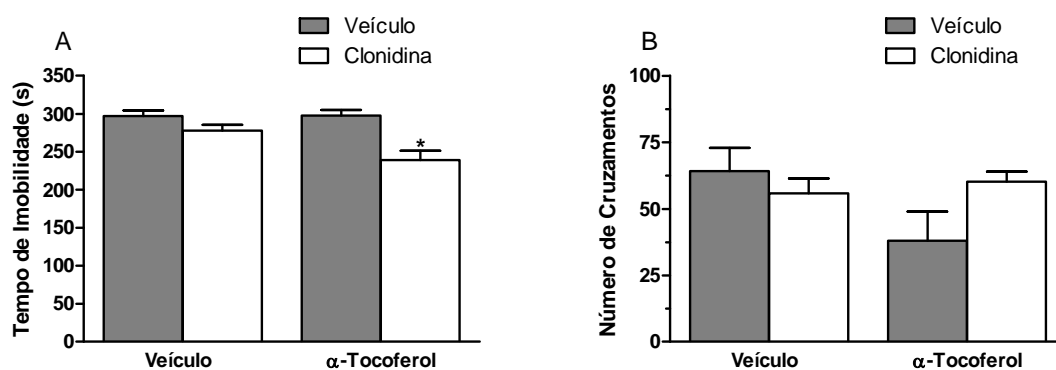


Figura 14. Efeito do tratamento com clonidina (0,06 mg/kg, i.p.) combinado com uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF (painel A) e no TCA (painel B). Os valores estão expressos com média + E.P.M. (N=6-8). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. * $P < 0,05$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,26) = 5,03$; $P < 0,05$], tratamento [$F(1,26) = 20,58$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,26) = 5,30$; $P < 0,05$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 1,99$; $P = 0,17$], tratamento [$F(1,20) = 0,80$; $P = 0,38$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 3,90$; $P = 0,06$].

A **Figura 23A** mostra o efeito sinérgico da co-administração de doses sub-ativas de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) e desipramina (8 mg/kg, p.o., antidepressivo tricíclico com maior seletividade para a inibição da recaptação de noradrenalina) no tempo de imobilidade no TNF. A **Figura 23B** mostra que a administração de desipramina *per se* ou em combinação com α -tocoferol não afetou a atividade locomotora no campo aberto.

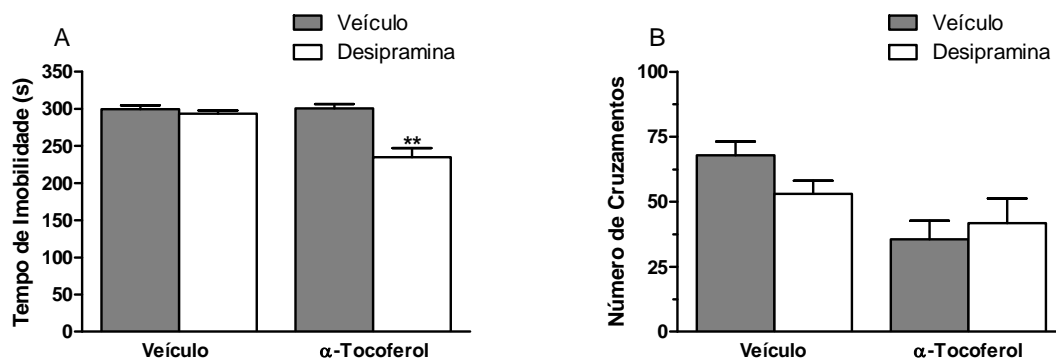


Figura 23. Efeito da co-administração de doses sub-ativas de desipramina (8mg/kg, p.o.) e α -tocoferol (10mg/kg, p.o.) no TNF (A) e no TCA (B) no TNF em camundongos. Os valores estão expressos como média + E.P.M (N=6). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0.01$ quando comparado aos animais tratados com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,20) = 22,47$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,20) = 13,94$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 15,27$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 9,67$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,20) = 0,38$; $P = 0,54$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 2,24$; $P = 0,15$].

5.4.3. Envolvimento do sistema glutamatérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF

Os resultados da **Figura 24** mostram que o pré-tratamento dos animais com NMDA (0,1 pmol/sítio, i.c.v., agonista de receptores NMDA, painel A) ou com D-serina (30 μ g/sítio, i.c.v., co-agonista de receptores NMDA, painel B) preveniu o efeito antidepressivo provocado pela administração de α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF.

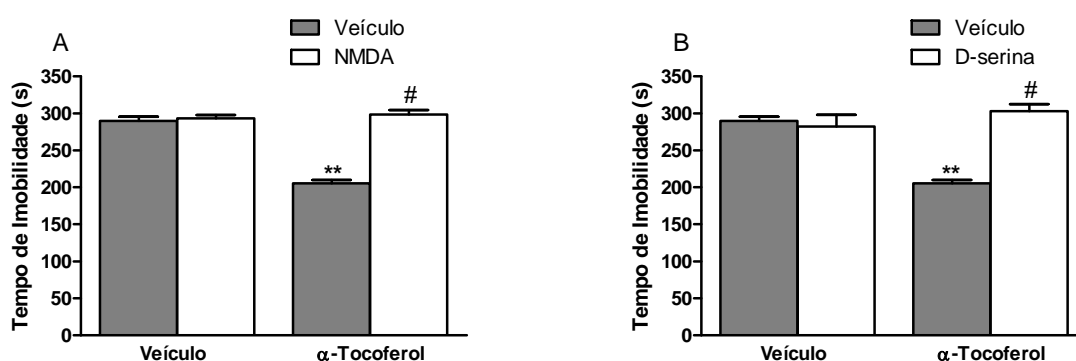


Figura 24. Efeito do pré-tratamento dos animais com NMDA (0,1 pmol/sítio, i.c.v., painel A) ou com D-serina (30 μ g/sítio, i.c.v., painel B) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pela administração de α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF. Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. Os valores estão expressos como a média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P < 0,01$ quando comparado ao grupo tratado com veículo. # $P < 0,01$ quando comparado ao mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,21) = 75,24$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 50,34$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 65,66$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,21) = 20,02$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 10,08$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 27,25$; $P < 0,01$].

A **Figura 25A** mostra que a administração de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) produz um efeito sinérgico com uma dose sub-ativa de MK-801 (0,001 mg/kg, i.p., agonista de receptores NMDA) no TNF (painel A). A **Figura 25B** mostra que a administração de MK-801 *per se* ou em combinação com α -tocoferol não afetou a atividade locomotora no campo aberto.

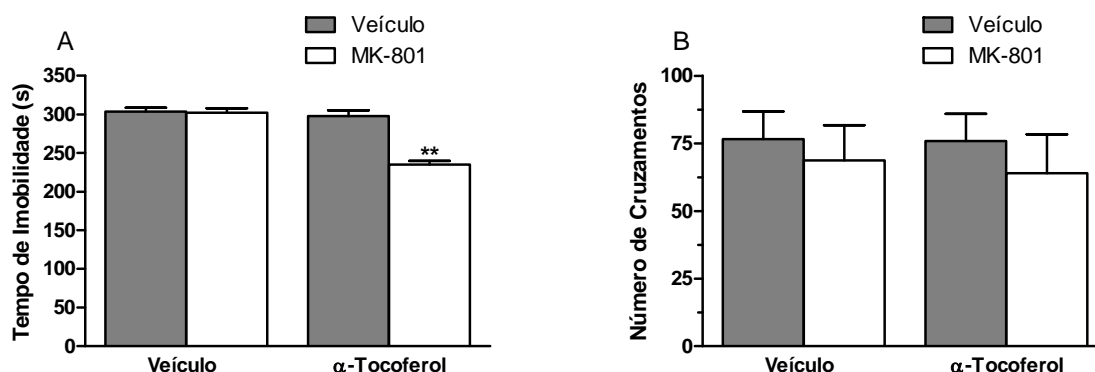


Figura 25. Efeito do tratamento com MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.) em potencializar a ação antidepressiva do α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) no TNF (painel A), sem causar nenhuma alteração na atividade locomotora no TCA (painel B). Os valores estão expressos com média + E.P.M. (N=6-8). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,22) = 40,02$; $P < 0,01$]; tratamento [$F(1,22) = 30,76$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,22) = 27,94$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 0,05$; $P = 0,83$], tratamento [$F(1,20) = 0,66$; $P = 0,42$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 0,03$; $P = 0,86$].

5.4.4. Envolvimento da via L-arginina-NO no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF

Os resultados apresentados na **Figura 26** mostram que o pré-tratamento dos animais com L-arginina (750 mg/kg, i.p., aminoácido precursor de NO, painel A) ou com S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP; 25 μ g/sítio, i.c.v., um doador de NO, painel B) foi capaz de prevenir a redução no tempo de imobilidade provocada pelo α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF.

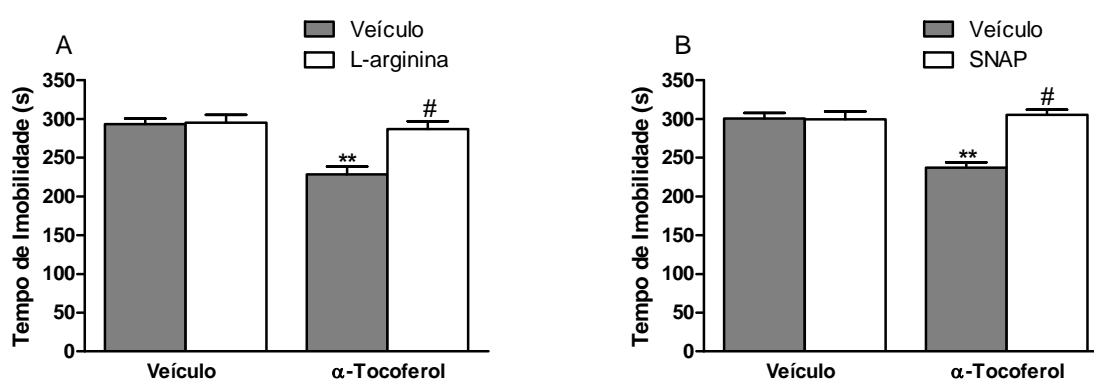


Figura 26. Efeito do pré-tratamento com L-arginina (750 mg/kg, i.p., painel A) ou SNAP (25 μ g/sítio, i.c.v., painel B) na redução do tempo de imobilidade causada pela administração de α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF. Os valores estão expressos como média + E.P.M. (N=6-7). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo; # $P < 0,01$ em relação ao mesmo grupo pré-tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,21) = 10,34$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 15,30$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 9,36$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,21) = 18,73$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 13,91$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 20,06$; $P < 0,01$].

A **Figura 27** mostra que a administração de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) produz um efeito sinérgico com o L-NNA (0,03 mg/kg, i.p., inibidor da NOS, painel A), sem alterar a atividade locomotora dos animais no TCA (painel B).

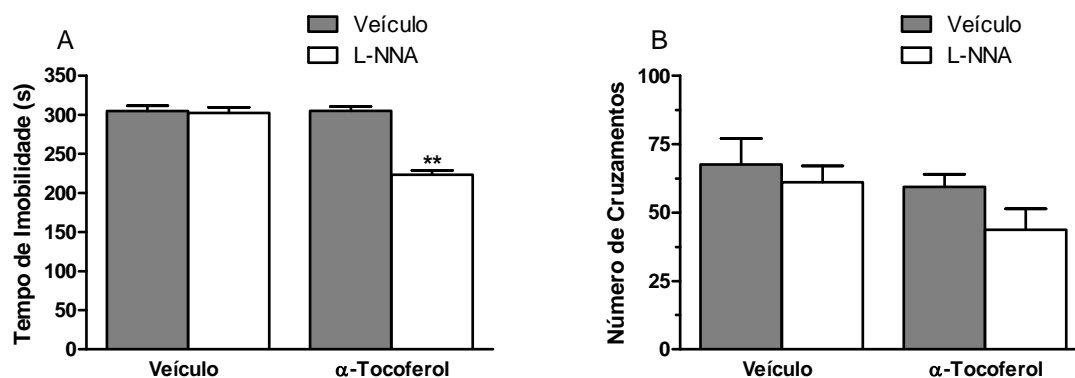


Figura 27. Efeito da administração de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) combinada com doses sub-ativas de L-NNA (0,03 mg/kg, i.p.) no TNF (painel A) e no TCA (painel B). Os valores estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,21) = 38,96$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 45,13$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 39,63$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 3,15$; $P = 0,09$], tratamento [$F(1,20) = 2,38$; $P = 0,14$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 0,41$; $P = 0,53$].

Os resultados da **Figura 28** mostram o efeito sinérgico da administração de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) com azul de metileno (18 mg/kg, i.p., inibidor da NOS e da GC, painel A) e com ODQ (30 pmol/sítio, i.c.v., inibidor específico da enzima GC, painel C) no TNF. A administração de azul de metileno (painel B) ou ODQ (painel D) *per se* ou em combinação com α -tocoferol não afetou a atividade locomotora no campo aberto.

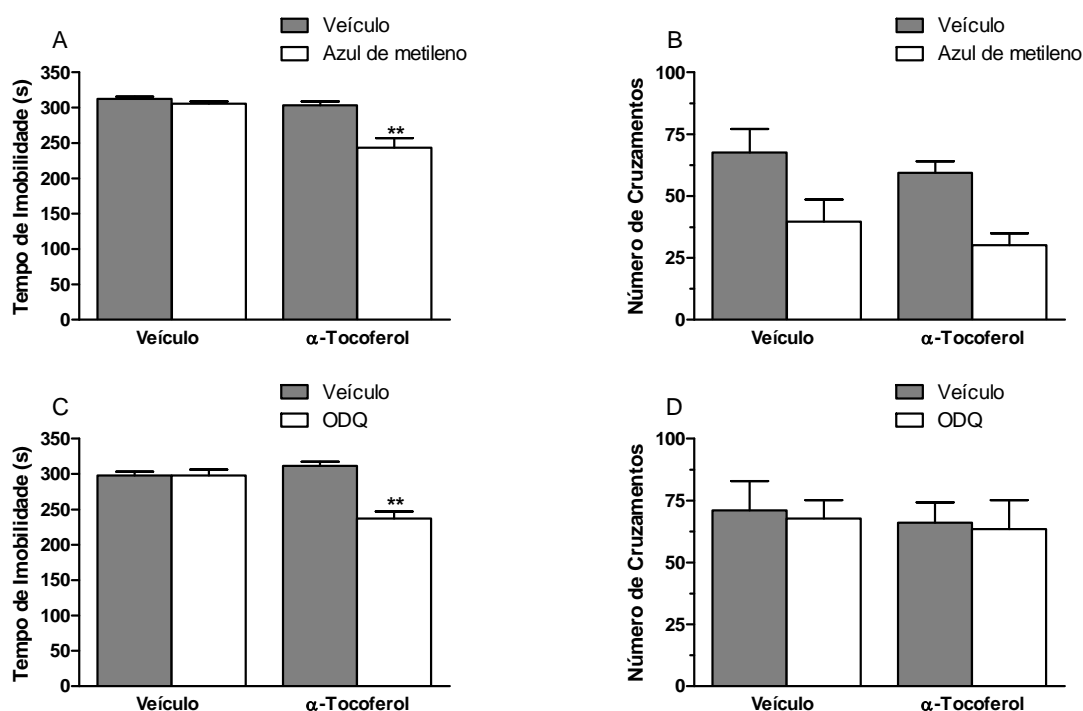


Figura 28. Efeito da administração de uma dose sub-ativa de α -tocoferol (10 mg/kg, p.o.) combinada com doses sub-ativas de azul de metileno (18 mg/kg, i.p., painéis A e B) e ODQ (30 pmol/sítio, i.c.v., painéis C e D) no TNF e no TCA. Os valores estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-8). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo.

A) Pré-tratamento [$F(1,22) = 14,64$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,22) = 13,03$; $P < 0,05$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,22) = 8,25$; $P < 0,01$].

B) Pré-tratamento [$F(1,20) = 1,46$; $P = 0,24$], tratamento [$F(1,20) = 15,25$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 0,01$; $P = 0,93$].

C) Pré-tratamento [$F(1,20) = 9,24$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,20) = 25,58$; $P < 0,01$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 23,16$; $P < 0,01$].

D) Pré-tratamento [$F(1,20) = 0,21$; $P = 0,65$], tratamento [$F(1,20) = 0,08$; $P = 0,77$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,20) = 0,002$; $P = 0,97$].

A **Figura 29** mostra que o pré-tratamento dos animais com sildenafil (5 mg/kg, i.p., inibidor da enzima fosfodiesterase tipo 5) foi capaz de prevenir o efeito antidepressivo do α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF.

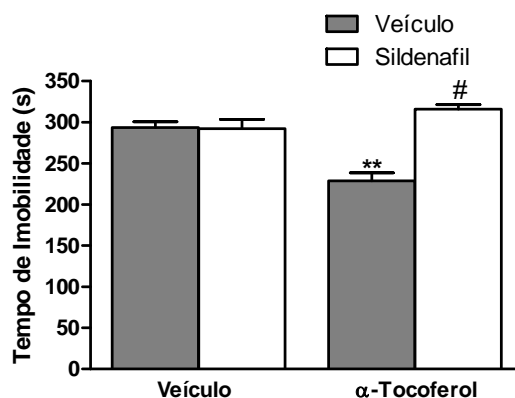


Figura 29. Efeito do pré-tratamento com sildenafil (5 mg/kg, i.p.) na redução do tempo de imobilidade causada pela administração de α -tocoferol (100 mg/kg, p.o.) no TNF. Os valores estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). Resultados avaliados por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey HSD. ** $P < 0,01$ em relação ao grupo tratado com veículo; # $P < 0,01$ em relação ao mesmo grupo pré-tratado com veículo. Pré-tratamento [$F(1,21) = 15,07$; $P < 0,01$], tratamento [$F(1,21) = 1,58$; $P = 0,22$] e interação entre tratamento e pré-tratamento [$F(1,21) = 16,47$; $P < 0,01$].

6. Discussão

No presente estudo foi demonstrado, ao nosso conhecimento pela primeira vez, que o tratamento agudo com α -tocoferol, a forma mais ativa e abundante de vitamina E, administrado sistemicamente (via p.o.) e centralmente (via i.c.v), produz um efeito tipo antidepressivo no TNF e no TSC, dois modelos animais amplamente utilizados para a triagem de novos compostos com ação antidepressiva (Bourin et al., 2005; McArthur e Borsini, 2006). Além disso, foi demonstrado que este efeito parece ser mediado por uma interação com os sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e glutamatérgico (via receptores NMDA), e com a via da L-arginina-NO. Adicionalmente, foi demonstrado que o tratamento crônico com α -tocoferol produz um efeito tipo antidepressivo no TNF e aumenta os níveis de GSH e a atividade das enzimas GPx e GR no hipocampo e no córtex cerebral dos animais.

Dentre os modelos animais de depressão com validade preditiva, o TNF descrito primeiramente por Porsolt et al. (1977) em ratos e posteriormente em camundongos, e o TSC, descrito em camundongos por Steru et al. (1985), encontram-se entre os mais utilizados (Cryan et al., 2002). Nos dois modelos os animais são colocados em uma situação inescapável, exposição ao nado e suspensão pela cauda, respectivamente, e após um período de agitação inicial eles assumem uma postura de imobilidade. Fármacos antidepressivos efetivos na clínica, assim como novos compostos com possível ação antidepressiva, provocam uma diminuição do tempo de imobilidade (Bourin et al., 2005). Estes dois modelos são de fácil execução, alta confiabilidade e especificidade (Cryan et al., 2002), além de serem sensíveis a todas as classes de fármacos antidepressivos (Cryan e Slattery, 2007). Ambos os modelos são também, ferramentas úteis para a busca de um melhor entendimento sobre o papel específico de

neurotransmissores e de subtipos de receptores implicados nos transtornos depressivos (Cryan et al., 2005b).

Embora sejam muito utilizados, estes modelos possuem algumas falhas. Fármacos antidepressivos, que na clínica necessitam de algumas semanas para exercerem sua ação terapêutica, possuem efeito nestes modelos quando administrados agudamente (Cryan et al., 2002). Além disso, compostos que alteram a atividade locomotora dos animais podem gerar resultados “falsos positivos”, como no caso dos psicoestimulantes, ou ainda “falsos negativos”, como por exemplo, os sedativos (Borsini e Meli, 1988). Para descartar esta possibilidade, os animais foram submetidos ao TCA, onde a locomoção dos animais submetidos ao tratamento com α -tocoferol foi avaliada. Os resultados mostraram que a administração aguda de α -tocoferol produz um efeito antidepressivo específico, uma vez que não houve alteração na atividade locomotora dos animais.

O α -tocoferol é considerado um importante neuroprotetor contra os processos degenerativos associados ao envelhecimento (Bourre, 2006), entretanto, o papel desta vitamina na depressão ainda não está bem estabelecido. Apesar de poucos estudos científicos abordarem a participação da vitamina E na patofisiologia da doença, no presente trabalho, o efeito tipo antidepressivo do tratamento agudo com α -tocoferol no TNF e no TSC, corrobora com o estudo de Maes et al. (2000) que demonstrou pela primeira vez que pacientes com depressão maior apresentam baixos níveis séricos de vitamina E, sugerindo que as defesas antioxidantes encontram-se deficitárias nesta doença. Posteriormente, o estudo de Owen et al. (2005) mostrou que além de diminuídos, os níveis plasmáticos de α -tocoferol são inversamente proporcionais a severidade da depressão, em pacientes avaliados pelo Inventário de Depressão de Beck. Além disso, estudos sugerem que alterações oxidativas, como danos acumulativos no DNA e a lipoperoxidação, podem ser o mecanismo patofisiológico em comum entre a

depressão maior e comorbidades inflamatórias como a aterosclerose (Forlenza e Miller, 2006; Sarandol et al., 2006), doença cujo tratamento com α -tocoferol possui resultados promissores em estudos clínicos e pré-clínicos, sendo já adotado como medida preventiva em determinados casos (Azzi, 2004; Munteanu e Zingg, 2007; Singh et al., 2005).

Estudos pré-clínicos também têm atribuído ao α -tocoferol um papel na modulação do humor. O tratamento com α -tocoferol reverte completamente o comportamento tipo-depressivo (*sickness behaviour*) induzido em camundongos pelo tratamento com lipopolissacarídeo, um patógeno capaz de desencadear processos inflamatórios e a produção de ERO (Berg et al., 2004). Goudbout et al. (2005) demonstrou ainda, que a atenuação deste comportamento pelo α -tocoferol é mediada por uma diminuição da expressão de NF κ B e da produção de interleucina 6, fator de necrose tumoral α e interleucina 1 β no encéfalo de camundongos. Apesar destes trabalhos não utilizarem modelos animais específicos de depressão, pode-se inferir o efeito tipo-antidepressivo do α -tocoferol, uma vez que estudos sugerem que a depressão pode ser desencadeada pela secreção de citocinas pró-inflamatórias associada à ativação do sistema imune e que o comportamento de *sickness behaviour* assemelha-se em vários aspectos à depressão (Dantzer, 2006; Dantzer et al., 2008).

A hipótese inflamatória da depressão é consistente com achados clínicos como o aparecimento de sintomas de depressão em pacientes tratados com citocinas pró-inflamatórias e a ativação exacerbada do sistema imune observada em pacientes depressivos (Dinan, 2009; Dunn et al., 2005; Schiepers et al., 2005). Além disso, antidepressivos de diferentes classes, como os TCA, os ISRS e os ISRN, diminuem a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Kenis e Maes, 2002; Raison et al., 2006).

Assim, o α -tocoferol pode compartilhar este mesmo mecanismo de ação com os antidepressivos, entretanto, esta hipótese necessita de mais estudos.

O tratamento crônico com α -tocoferol também foi capaz de diminuir o tempo de imobilidade dos animais no TNF, modelo escolhido para este protocolo por ser o mais utilizado na literatura (Cryan et al., 2002). O tratamento durante 28 dias com α -tocoferol na dose de 10 mg/kg (p.o.) apresentou efeito antidepressivo específico semelhante ao da fluoxetina (10 mg/kg, controle positivo, p.o.), administrada durante o mesmo período. A dose ativa de α -tocoferol no tratamento crônico foi inferior a dose ativa no tratamento agudo, perfil semelhante ao dos antidepressivos fluoxetina e desipramina (Detke et al., 1997). O estudo de Cryan et al. (2005a) também demonstrou que a administração de baixas doses de reboxetina e fluoxetina não apresenta efeito no TNF em ratos, entretanto, após 14 dias de tratamento o efeito anti-imobilidade destes fármacos é observado. Estes estudos propõem que o efeito crônico de baixas doses de antidepressivos no TNF pode ser atribuído a alterações neuroquímicas progressivas, enquanto que o efeito agudo verificado em doses mais altas neste modelo, ocorre devido aos eventos desencadeados inicialmente pelos antidepressivos, como os aumentos dos níveis de monoaminas (Cryan et al. 2005a; Detke et al., 1997). De fato, o tratamento com antidepressivos só apresenta efeito clínico após semanas de seu início, sugerindo que outros processos mais lentos, como a ativação de vias de sinalização de plasticidade neural e neurogênese, são essenciais para seus efeitos (Nestler et al., 2002). Desta forma, pode-se inferir que baixas doses de α -tocoferol não são capazes de aumentar agudamente os níveis de monoaminas de maneira suficiente para produzir um efeito antidepressivo, mas sua administração crônica é capaz de provocar alterações neurais graduais e elicitar um efeito tipo antidepressivo. Entretanto, mais estudos são necessários para confirmar esta hipótese.

Estudos clínicos e pré-clínicos têm demonstrado que o tratamento crônico com antidepressivos reverte os danos oxidativos encontrados na depressão e no estresse crônico, indicando que as propriedades antioxidantes dos antidepressivos contribuem para seu efeito clínico (Eren et al., 2007a, 2007b; Zafir e Banu, 2007; Ng et al., 2008; Zafir et al., 2008). Considerando que a GSH é o principal tiol não protéico com ação antioxidante no SNC (Oja et al., 2000); que pacientes com depressão apresentam alterações nos níveis de GSH e na atividade das enzimas envolvidas em seu metabolismo (Bilici et al., 2001; Ozcan et al., 2004); e que o α -tocoferol modula o metabolismo da GSH (Van Haaften et al., 2003), este estudo investigou o efeito do tratamento crônico com α -tocoferol no sistema de defesa antioxidante da glutathiona no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos, duas estruturas envolvidas na regulação do humor e da cognição.

Os resultados do presente estudo mostram que o tratamento com α -tocoferol por 28 dias na dose de 10 mg/kg (p.o.) produziu um aumento dos níveis de GSH no hipocampo e no córtex pré-frontal dos camundongos. A administração de fluoxetina também foi capaz de aumentar os níveis de GSH no hipocampo, mas não no córtex pré-frontal. Apenas a dose de α -tocoferol ativa no TNF foi capaz de aumentar os níveis de GSH nas estruturas avaliadas, sugerindo que a ação antidepressiva da vitamina E pode estar relacionada ao aumento das defesas antioxidantes. De fato, a diminuição dos níveis de GSH, que torna a célula vulnerável a danos oxidativos, é considerada um importante fator de risco para o desenvolvimento de patologias como a doença de Alzheimer, Parkinson, esquizofrenia e depressão (Lomaestro e Malone, 1995; Ng et al., 2008; 1998; Townsend et al., 2003). Além disso, o tratamento com o precursor da GSH, N-acetilcisteína, atenua os sintomas de depressão, em pacientes avaliados pela Escala de Depressão de Montgomery-Asberg (Berk et al., 2008a), e o tratamento de culturas de

monócitos humanos com diferentes classes de antidepressivos aumenta a expressão do RNAm da enzima L-glutamil-cisteína sintetase, responsável pela síntese de GSH (Schmidt et al., 2008). Estes dados sugerem que o aumento dos níveis de GSH podem estar correlacionado ao efeito exercido por estes fármacos. Entretanto, este estudo avaliou os níveis de GSH-t, incluindo sua forma reduzida e oxidada, portanto, uma análise da relação entre estas duas formas (relação GSSG/GSH) deve ser realizada para que os resultados sejam mais conclusivos.

Dentre as defesas antioxidante enzimáticas a GPx e a GR destacam-se como importantes agentes redutores. A GPx é responsável por reduzir hidroperóxidos de lipídios em seus álcoois correspondentes e peróxidos de hidrogênio em água, agindo como um potente agente antioxidante, enquanto a GR reduz a glutathiona dissulfeto ou oxidada (GSSG) na forma sulfidril ou reduzida (GSH), a qual é um importante antioxidante celular (Dringen et al., 2005). Os resultados do presente estudo mostram que a administração de α -tocoferol foi capaz de aumentar a atividade das enzimas GPx e GR no hipocampo (10 mg/kg) e no córtex pré-frontal (10-100 mg/kg), reforçando a idéia de que o tratamento com α -tocoferol aumenta as defesas antioxidantes no encéfalo dos animais. De fato, o tratamento com α -tocoferol aumenta a atividade desta enzima (Van Haaften et al., 2003) e a deficiência desta vitamina reduz a atividade da GPx no cérebro de camundongos (Bourre et al., 2000). Estudos têm sugerido ainda que as enzimas antioxidantes são importantes alvos do tratamento com antidepressivos (Schmidt et al., 2008). A atividade da GPx está diminuída em animais submetidos ao estresse crônico moderado, o que é revertido pelo tratamento com antidepressivos (Eren et al., 2007a; Eren et al., 2007b). Adicionalmente, o tratamento de culturas de monócitos humanos com antidepressivos aumenta os níveis de mRNA das enzimas superóxido dismutase, glutathiona-S-transferase e GR (Schmidt et al., 2008).

Os resultados do tratamento crônico com α -tocoferol sobre o sistema de defesa antioxidante da glutathione sugerem que o efeito modulatório desta vitamina no hipocampo pode estar relacionado ao seu efeito antidepressivo, uma vez que esta estrutura foi sensível apenas à dose de α -tocoferol que produziu efeito tipo antidepressivo no TNF e ao antidepressivo clássico fluoxetina. O tratamento crônico com fluoxetina não foi capaz de alterar a atividade das enzimas antioxidantes em nenhuma das estruturas investigadas. De fato, o tratamento com antidepressivos não altera parâmetros de estresse oxidativo em animais saudáveis, porém é capaz de reverter os efeitos de modelos de estresse crônico sobre os mesmos (Zafir e Banu, 2007. Zafir et al., 2008). Considerando que em nosso estudo os animais não foram submetidos a nenhum modelo de indução de depressão, não se pode afirmar que o efeito neuroprotetor da fluoxetina contra o estresse oxidativo está envolvido em seu efeito antidepressivo no TNF. Entretanto, os resultados do presente estudo sugerem que o α -tocoferol possui um perfil antioxidante mais pronunciado que a fluoxetina e que esta propriedade parece ser relevante para sua ação antidepressiva neste modelo, porém, mais estudos são necessários para confirmar esta hipótese.

Dentre as teorias propostas acerca das bases etiológicas da depressão, a hipótese monoaminérgica destaca-se por embasar, ainda que parcialmente, o mecanismo de ação da grande maioria dos fármacos antidepressivos efetivos na clínica. Entretanto, apesar do aumento dos níveis de 5-HT e NA ser o passo inicial da ação destes fármacos, a interação dos neurotransmissores com seus respectivos receptores pré e pós-sinápticos é complexa e essencial para sua funcionalidade. Desta forma, o envolvimento dos receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos no efeito antidepressivo da administração aguda de α -tocoferol no TNF foi investigado.

Os resultados deste trabalho sugerem, primeiramente, que o efeito antidepressivo do α -tocoferol parece estar envolvido com o sistema serotoninérgico, uma vez que a depleção da 5-HT, através da administração de PCPA preveniu completamente a redução na imobilidade causada pela vitamina no TNF. O PCPA é um inibidor da enzima triptofano hidroxilase que age no terminal pré-sináptico (Luscombe et al., 1993), e sua administração, por quatro dias consecutivos, causa uma depleção de aproximadamente 60% nos níveis de 5-HT endógena em camundongos, sem afetar os níveis de NA e DA (Redrobe et al., 1998). Assim, pode-se inferir que o efeito antidepressivo do α -tocoferol depende da síntese fisiológica de 5-HT, da mesma maneira que a fluoxetina, uma vez que estudos pré-clínicos mostram que seu efeito antidepressivo no TNF também é revertido pela administração de PCPA (Page et al., 1999; Eckeli et al., 2000; Kaster et al., 2005a; Brocardo et al., 2008a). Além disso, o estudo de Adachi et al. (1999) demonstrou que a deficiência de vitamina E em ratos provoca uma diminuição da atividade da enzima triptofano hidroxilase, demonstrando a importância desta vitamina no metabolismo deste neurotransmissor.

Para reforçar a idéia da participação da 5-HT no efeito antidepressivo do α -tocoferol, um possível efeito sinérgico entre esta vitamina e a fluoxetina no TNF foi investigado. A fluoxetina, antidepressivo que aumenta a disponibilidade de 5-HT na fenda sináptica, quando co-administrada (p.o.) com α -tocoferol, em doses que não tem efeito *per se*, potencializa o efeito anti-imobilidade da vitamina, sem alterar a atividade locomotora dos animais. Assim, o mecanismo de ação antidepressiva do α -tocoferol parece ser mediado, pelo menos em parte, por um aumento dos níveis de 5-HT na fenda sináptica. Adicionalmente, estudos pré-clínicos mostram que a deficiência de vitamina E provoca uma diminuição dos níveis de 5-HT no encéfalo de ratos, sugerindo que esta

vitamina possui um importante papel na transmissão serotoninérgica (Castaño et al., 1992; Adachi et al., 1999).

Os receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT_{1A} são os mais diretamente relacionados ao efeito clínico dos antidepressivos (Celada et al., 2004). A administração de antidepressivos clássicos como os ISRS e os iMAO produz um efeito paradoxal: por um lado os níveis de 5-HT são imediatamente elevados e os receptores pós-sinápticos ativados, aumentando a transmissão serotoninérgica; por outro lado, o aumento dos níveis de 5-HT na fenda sináptica promove a ativação dos autoreceptores inibitórios 5-HT_{1A}, que diminuem a taxa de disparo dos neurônio pré-sinápticos (Artigas et al., 1996). Esta ação contraditória faz com que o efeito final da administração do antidepressivo seja menor que o esperado e pode contribuir para a demora da resposta terapêutica a estes fármacos, uma vez que somente a sua administração crônica é capaz de dessensibilizar estes receptores, atenuando seu efeito sobre a célula pré-sináptica (Celada et al., 2004). Os resultados do presente estudo mostram que a administração de WAY100635 (antagonista de receptores 5-HT_{1A}) possui efeito sinérgico com uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF, sem alterar a atividade locomotora dos animais no TCA, sugerindo que o bloqueio destes receptores contribui com a ação antidepressiva desta vitamina. Resultado semelhante foi encontrado no trabalho de Rocha et al. (1997), onde o tratamento com WAY100635 foi capaz de potencializar o efeito de uma dose sub-ativa de fluoxetina no TNF.

Um estudo epidemiológico revelou menor incidência de depressão maior e menor consumo de antidepressivos em uma população de pacientes com doenças cardiovasculares tratados com pindolol (antagonista de receptores 5-HT_{1A} / antagonista de receptores β -adrenérgicos), em comparação com outros β -bloqueadores, o que sugere um efeito benéfico do pindolol em transtornos de humor (Rasanen et al., 1999). Os

resultados do presente trabalho mostram que o tratamento com pindolol potencializou o efeito de uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF. Uma vez que, os resultados obtidos pela interação entre o propranolol (antagonista de receptores β -adrenérgicos) e o α -tocoferol mostram que o efeito antidepressivo da vitamina E não é dependente destes receptores, pode-se atribuir o efeito sinérgico exercido pelo pindolol ao antagonismo de receptores 5-HT_{1A}. De fato, estudos clínicos têm demonstrado que o tratamento com pindolol em associação com ISRS acelera a resposta terapêutica e aumenta o número de pacientes responsivos a farmacoterapia (Artigas et al., 1994; Whale et al., 2008). Assim, o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol parece ser mediado um aumento dos níveis de 5-HT através do bloqueio de receptores 5-HT_{1A}, sugerindo que associação entre α -tocoferol e ISRS pode ser uma promissora alternativa terapêutica para pacientes acometidos pela depressão.

Estudos pré-clínicos e clínicos têm mostrado que o aumento na transmissão serotoninérgica causa efeitos na transmissão noradrenérgica e vice-versa, confirmando que 5-HT e noradrenalina estão intimamente relacionadas no SNC (Gorman e Sullivan, 2000; Szabo e Blier, 2001a; Szabo e Blier, 2001b). Pacientes com depressão apresentam distúrbios nesta interação, o que sugere que uma falha na comunicação entre estes sistemas pode estar envolvida na patogênese desta doença (Geraciotti et al., 1997). Além disso, foi demonstrado que camundongos que tiveram seus níveis endógenos de NA depletados, não respondem aos antidepressivos, incluindo os ISRS (Cryan et al., 2004). Adicionalmente, estudos clínicos têm mostrado que o tratamento com antidepressivos que inibem a recaptação de 5-HT e NE, como a venlafaxina, possui uma maior eficácia clínica que ISRS (Rudolph, 2002; Stahl et al., 2002; Papakostas et al., 2007). Tendo em vista a importante relação entre o sistema serotoninérgico e noradrenérgico na

fisiopatologia e tratamento da depressão, este estudo investigou o envolvimento dos receptores noradrenérgicos no efeito antidepressivo do α -tocoferol.

Os resultados do presente estudo mostram que o pré-tratamento com prazosina (antagonista de receptores α_1 -adrenérgicos) ou ioimbina (antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos) foi capaz de prevenir completamente o efeito anti-imobilidade do α -tocoferol no TNF. De fato, estudos demonstraram que a ativação destes receptores é essencial para o efeito de antidepressivos que melhoram a transmissão noradrenérgica, uma vez que antagonistas α -adrenérgicos também bloqueiam os efeitos da desipramina (Brunello et al., 2002; Millan, 2004). Adicionalmente, o tratamento com fenilefrina (um agonista de receptores α_1 -adrenérgicos pós-sinápticos) ou clonidina (agonista de receptores α_2 -adrenérgicos pós-sinápticos), em uma dose que não possui efeito *per se* no TNF, foi capaz de potencializar o efeito antidepressivo de uma dose sub-ativa de α -tocoferol, sugerindo que a vitamina E pode compartilhar o mesmo mecanismo de ação com os agonistas noradrenérgicos e reforçando a idéia de que a ativação dos receptores α -adrenérgicos é necessária para o seu efeito antidepressivo.

O envolvimento dos receptores β -adrenérgico na patofisiologia de depressão não está bem estabelecido. O tratamento crônico com antidepressivos provoca uma “down-regulation” destes receptores e a administração de antagonistas β -adrenérgicos potencializa o efeito da desipramina no TNF (Kitada et al., 1983; Miyauchi et al., 1984). Por outro lado, a literatura relata que o uso de β -bloqueadores pode desencadear depressão em pacientes com doenças cardiovasculares (Ried et al., 1998). Os resultados deste trabalho mostram que o pré-tratamento com propranolol (antagonista não seletivo de receptores β -adrenérgicos) não foi capaz de reverter o efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF, sugerindo que a ativação destes receptores não é necessária para o efeito da vitamina E neste modelo.

A participação do sistema noradrenérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol também foi demonstrada pelo efeito sinérgico da co-administração de doses sub-ativas de α -tocoferol e desipramina, em reduzir o tempo de imobilidade no TNF. Assim, o efeito antidepressivo do α -tocoferol pode ser atribuído, em parte, ao aumento dos níveis de NA, uma vez que a desipramina é um antidepressivo tricíclico com maior seletividade para a inibição da recaptação de NA. Estudos pré-clínicos mostram que a deficiência de vitamina E provoca uma diminuição dos níveis encefálicos de NA, sem alterar a atividades das enzimas responsáveis por sua síntese, o que pode indicar a participação da vitamina E na regulação de mecanismos de degradação e recaptação de NA (Burkard et al., 1968; Adachi, 1999). Além disso, o tratamento com ISRN promove um aumento da liberação de 5-HT, que parece ser mediado por uma dessensibilização dos autoreceptores α_2 -adrenérgicos e ativação dos receptores α_1 -adrenérgicos (Elhwuegi, 2004). Adicionalmente, o uso de desipramina em associação com fluoxetina, cuja administração também apresentou efeito sinérgico com α -tocoferol no TNF, é mais efetivo na clínica que o uso destes fármacos separadamente (Nelson et al., 2003). Desta forma, o efeito obtido pela interação entre α -tocoferol e desipramina pode ser devido a um aumento mútuo da neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica.

A complexa interação entre as vias glutamatérgicas e monoaminérgicas no SNC possui um papel crucial na regulação dos estados de humor e cognição (Skolnick et al., 2001; Zarate et al., 2003). O bem estabelecido efeito antidepressivo dos antagonistas de receptores NMDA em modelos animais parece ser mediado pela ativação de vias monoaminérgicas cortico-límbicas (Millan et al., 2000). Além disso, mecanismos monoaminérgicos também parecem estar envolvidos no efeito antidepressivo da cetamina em pacientes com depressão maior (Berman et al., 2000; Millan, 2004). Adicionalmente, um grande número de evidências tem associado à depressão maior a

uma disfunção na sinalização glutamatérgica, especialmente à hiperativação dos receptores NMDA (Sanacora, 2003). Considerando a relação entre os sistemas monoaminérgico e glutamatérgico e o importante papel dos receptores NMDA na patogênese e tratamento da depressão, o presente estudo investigou o envolvimento destes receptores no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF.

Os resultados do presente trabalho mostram que o pré-tratamento com NMDA (agonista de receptores NMDA) ou com D-serina (co-agonista de receptores NMDA), preveniu completamente o efeito antidepressivo provocado pela administração de α -tocoferol no TNF, o que mostra que a ativação destes canais impede que o α -tocoferol exerça seu efeito. Resultado semelhante foi obtido por Poleszak et al. (2007), cujo estudo mostra que a ativação de receptores NMDA por NMDA e D-serina reverte completamente o efeito anti-imobilidade de diferentes antagonistas NMDA no TNF, sugerindo que o bloqueio destes receptores é uma etapa essencial para sua ação antidepressiva. Por outro lado, em modelos animais de indução de depressão, como o estresse crônico e a bulbectomia olfatória, existe um aumento na liberação de glutamato no hipocampo (Kugaya e Sanacora, 2008). Além disso, o aumento nos níveis de D-serina está envolvido em processos de neurodegeneração crônica e coopera com o glutamato na hiperativação de receptores NMDA (Sasabe et al., 2007, Wu et al., 2007). Os resultados deste trabalho mostram ainda, que a administração de uma dose sub-ativa de MK-801 (antagonista de receptores NMDA) é capaz de potencializar o efeito de uma dose sub-ativa de α -tocoferol, demonstrando que a vitamina E pode estar inibindo, de alguma maneira, os receptores NMDA.

É bem estabelecido na literatura que antagonistas de receptores NMDA possuem propriedades antidepressivas (Skolnick, 1999; Paul e Skolnick, 2003) e são capazes de potencializar a atividade de antidepressivos como a fluoxetina, venlafaxina e

imipramina (Rosa et al., 2003; Rogoz et al., 2002). Além disso, o pré-tratamento com PCPA previne completamente o efeito antidepressivo do MK-801 no TNF (Eckeli et al., 2000), sugerindo que o bloqueio de receptores NMDA aumenta os níveis de 5-HT e potencializa ação de compostos que atuem sobre o sistema serotoninérgico. Considerando o efeito sinérgico entre o α -tocoferol e MK-801, fluoxetina ou desipramina no TNF, o bloqueio de receptores NMDA e o conseqüente aumento indireto dos níveis de 5-HT e NA, consistem um possível mecanismo para o efeito antidepressivo desta vitamina, entretanto, mais estudos são necessários para confirmar esta hipótese. Por outro lado, antidepressivos como a fluoxetina, citalopram e a desipramina, em concentrações clinicamente relevantes, reduzem o “binding”, a expressão e a função de receptores de NMDA (Boyer et al., 1998; Gołmbiowska e Dziubina, 2000, Skolnick, 1999; Paul e Skolnick, 2003). Como foi demonstrado por nossos resultados, o efeito do α -tocoferol é dependente de uma interação com os sistemas serotoninérgico e noradrenérgico, assim, pode-se especular, alternativamente, que a inibição dos receptores de NMDA pode ser uma conseqüência de uma estimulação direta do sistema monoaminérgico pelo α -tocoferol, uma vez que NA e 5-HT podem inibir a liberação de glutamato (Forray et al., 1999; Maura et al., 2000).

Outra conseqüência da ativação de receptores NMDA é a indução da enzima NOS, responsável pela síntese de NO a partir de L-arginina, no terminal pós-sináptico (Denninger e Marletta, 1999). Um aumento exacerbado da produção de NO leva à formação de ERN, que podem nitrosilar grupamentos tióis presentes nas proteínas, causando modificações em sua estrutura, conformação e funcionalidade (Calabrese et al., 2007). Estudos mostram ainda, que o aumento da produção de NO diminui a neurogênese hipocampal e eleva os níveis de ERO no SNC, eventos relacionados com a patofisiologia dos transtornos de humor (Akyol et al., 2004; Joca et al., 2007). A fim de

verificar se o efeito antidepressivo do α -tocoferol é devido a uma modulação da síntese de NO, o envolvimento da via da L-arginina-NO neste efeito foi investigado.

Nossos resultados demonstraram que o pré-tratamento com o aminoácido precursor de NO, L-arginina, ou com SNAP, um doador de NO, preveniu significativamente o efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF. Além disso, tratamento dos camundongos com L-NNA (análogo da L-arginina, que age como um inibidor competitivo da enzima NOS) foi capaz de potencializar o efeito anti-imobilidade de uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF. Estes resultados indicam que o efeito antidepressivo da vitamina E pode ser dependente, pelo menos em parte, da inibição da síntese de NO. De fato, inibidores da NOS exercem efeitos antidepressivos semelhantes aos efeitos dos antagonistas de receptores NMDA no TNF e potencializam a ação de antidepressivos clássicos (Harkin et al., 2004) e do MK-801 neste modelo (Dhir e Kulkarni, 2008), demonstrando uma relação direta entre a inibição dos receptores NMDA e da síntese de NO na ação antidepressiva destes compostos. Além disso, o trabalho de Zaja-Milatovic et al. (2008) mostra que o tratamento com α -tocoferol atenua o estresse oxidativo, aumenta a densidade dendrítica e inibe a NOS no cérebro de camundongos, após a indução de excitotoxicidade por cainato, substância que ativa receptores glutamatérgicos excitatórios. Assim, o α -tocoferol, além de modular os receptores NMDA conforme foi mostrado neste estudo, também pode atuar diminuindo os níveis de NO e de ERN, o que explicaria em parte, o efeito sinérgico observado entre esta vitamina e o L-NNA.

O NO também é capaz de estimular a enzima GCs, que catalisa a conversão do GTP em GMPc, aumentando os níveis endógenos desta molécula sinalizadora (Snyder, 1992). Estudos têm demonstrado que inibidores da GCs produzem efeito antidepressivo no TNF (Eroglu e Caglayan, 1997; Ergün e Ergün, 2007). Os resultados do presente

estudo mostram que o tratamento com azul de metileno (inibidor da NOS e da GC) ou ODQ (inibidor da GC), em doses que não exercem efeito *per se*, potencializou o efeito de uma dose sub-ativa de α -tocoferol no TNF, sugerindo que a inibição da produção de GMPc e dos eventos por ele mediados posteriormente, estão envolvidos na ação antidepressiva da vitamina E. Além disso, a reversão do efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF pelo pré-tratamento dos camundongos com sildenafil, um inibidor seletivo da fosfodiesterase 5 (PDE5), corrobora com a idéia de que o α -tocoferol exerce sua ação através de uma diminuição dos níveis de GMPc, uma vez que a inibição da PDE5, enzima que catalisa a hidrólise GMPc em GMP, aumenta as concentrações de GMPc nos tecidos alvos (Beavo, 1995). De fato, o sildenafil é capaz de reverter o efeito antidepressivo do ODQ no TNF (Kaster et al., 2005b).

Estudos têm demonstrado ainda uma importante relação entre a síntese de NO e o sistema serotoninérgico. Camundongos com depleção genética da NOSn apresentam uma hipofunção dos receptores 5-HT_{1A} (Chiavegatto et al. 2001) e a depleção de 5-HT pela administração de PCPA, causa um aumento na expressão da NOSn no córtex frontal e hipocampo de ratos (Tagliaferro et al. 2003). Além disso, a administração de inibidores da NOS aumenta a liberação de 5-HT hipocampal (Wegener et al., 2000), aumenta os níveis de 5-HT e da enzima triptofano hidroxilase do giro denteado (Park et al. 2004), e potencializa o efeito de ISRS no TNF (Harkin et al., 2004). Como visto anteriormente, o bloqueio de receptores NMDA, bem como a estimulação noradrenérgica, também aumentam a atividade dos neurônios serotoninérgicos (Rogoz et al., 2002; Szabo e Blier, 2001). Desta forma, o efeito antidepressivo da administração aguda de α -tocoferol no TNF parece envolver uma integração com múltiplos sistemas de neurotransmissores (**Figura 30**), cujo ponto de convergência parece ser o aumento dos níveis de 5-HT e conseqüente aumento da neurotransmissão serotoninérgica.

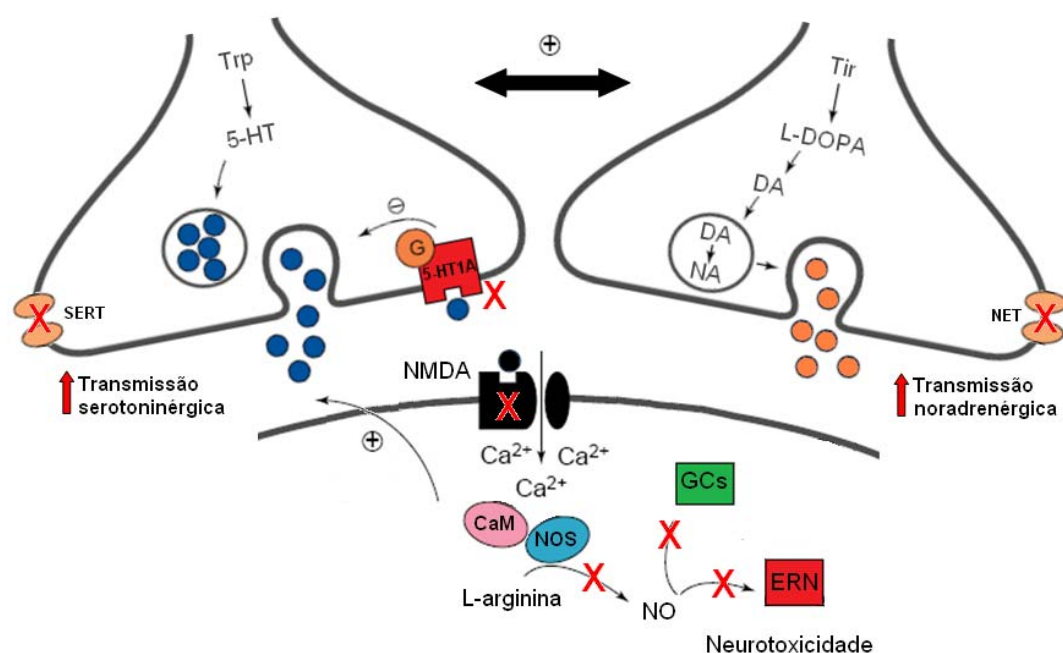


Figura 30. Possíveis mecanismos envolvidos no efeito antidepressivo da administração aguda de α -tocoferol no TNF. O α -tocoferol parece agir antagonizando receptores 5-HT_{1A} e os transportadores de 5-HT, aumentando a liberação de 5-HT na fenda sináptica. Seu efeito também é dependente da ativação de receptores α -adrenérgicos e da inibição da recaptação de NA. Um aumento na transmissão noradrenérgica parece ativar a transmissão serotoninérgica. Além disso, o efeito do α -tocoferol depende do antagonismo de receptores NMDA, e da inibição da síntese de NO e GMPc. Estes mecanismos também são capazes de aumentar as concentrações de 5-HT na fenda sináptica. Assim, o α -tocoferol pode ser uma nova alternativa para aumentar a resposta terapêutica aos ISRS.

CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho indicam que a administração aguda de α -tocoferol por via oral produz efeito tipo antidepressivo no TNF e o TSC. A administração intracerebroventricular de α -tocoferol também foi capaz de elicitar efeito antidepressivo nestes modelos, sugerindo que o efeito da vitamina E é devido a sua ação no SNC. Além disso, o tratamento crônico (28 dias) com α -tocoferol foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade dos animais no TNF. Assim, este estudo sugere que a vitamina E possui um potencial antidepressivo e pode ser uma alternativa terapêutica no tratamento da depressão.

O tratamento crônico com vitamina E foi capaz de aumentar os níveis de GSH e a atividade da enzima GPx no hipocampo e no córtex cerebral de camundongos. Estes resultados sugerem que o tratamento com α -tocoferol aumenta as defesas antioxidantes e pode auxiliar na prevenção de danos oxidativos no encéfalo, processo envolvido na patogênese da depressão.

Os resultados demonstraram ainda, que o efeito antidepressivo do tratamento agudo com α -tocoferol é dependente de uma interação com o sistema serotoninérgico, via receptores 5-HT_{1A}, e com o sistema noradrenérgico, via ativação de receptores α_1 e α_2 -adrenérgicos. Os testes farmacológicos também mostraram que o efeito da administração aguda de α -tocoferol envolve a inibição de receptores NMDA e inibição da síntese de NO e GMPc. Uma vez que a literatura relata que a modulação destes diferentes receptores e a inibição da síntese de NO possuem um efeito estimulatório sobre a neurotransmissão serotoninérgica, pode-se especular que a vitamina E atua sobre este sistema e pode atuar de maneira sinérgica com os ISRS, melhorando sua resposta terapêutica.

Este estudo demonstrou evidências do efeito antidepressivo da vitamina E e seu mecanismo de ação. O TNF e o TSC são modelos animais preditivos de ação antidepressiva e, portanto, são importantes ferramentas utilizadas inicialmente para a detecção de propriedades antidepressivas. Assim, o presente trabalho é de extrema relevância para estudos posteriores sobre a atividade antidepressiva da vitamina E em diferentes modelos animais de depressão ou ainda, para estudos clínicos abordando um possível efeito benéfico desta vitamina no tratamento da depressão.

PERSPECTIVAS

- Investigar o efeito da administração de α -tocoferol sobre o comportamento depressivo induzido pela administração i.c.v. de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) em camundongos, tendo em vista a estreita relação entre inflamação e depressão, e a proeminente atividade antiinflamatória da vitamina E.
- Avaliar o efeito do tratamento crônico (30 dias) com α -tocoferol sobre outras enzimas antioxidantes, como a glutathiona-S-tranferase, catalase e superóxido dismutase, bem como sobre outros parâmetros de estresse oxidativo, entre eles a relação GSH/GSSG e a peroxidação lipídica pela dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).
- Investigar o envolvimento do sistema dopaminérgico no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF, uma vez que a dopamina é uma das aminas biogênicas deficitárias na depressão maior.
- Investigar o papel dos canais de K^+ no efeito antidepressivo do α -tocoferol no TNF, considerando que a ativação destes canais, que desempenham um papel fundamental no controle da excitabilidade neural, é regulada pelo aumento nos níveis de GMPc, e que inibidores dos canais de K^+ possuem efeito antidepressivo no TNF.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADACHI, K., IZUMI, M., MITSUMA, T. Effect of vitamin e deficiency on rat brain monoamine metabolism. *Neurochem. Res.*, 24: 1307-1311, 1999.
- AKERBOOM, T.P., SIES, H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol.*, 77: 373-382, 1981.
- AKYOL O, ZOROGLU SS, ARMUTCU F, SAHIN S, GUREL A. Nitric oxide as a physiopathological factor in neuropsychiatric disorders. *In Vivo*, 18: 377-390, 2004.
- AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Washington, DC. 4th ed., 1994.
- APARÍCIO, J.M., BÉLANGER-QUINTANA, A., SUAREZ, L., MAYO, D., BENÍTEZ, J., DIAZ, M., ESCOBAR, H. Ataxia with isolated vitamin E deficiency: case report and review of the literature. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 33: 206-210, 2001.
- ARTIGAS, F., PEREZ, V., ALVAREZ, E. Pindolol induces a rapid improvement of depressed patients treated with serotonin reuptake inhibitors. *Arch. Gen. Psychiatry*, 51: 248-251, 1994.
- ARTIGAS, F., ROMERO, L., DE MONTIGNY, C., BLIER, P. Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT_{1A} antagonists. *Trends Neurosci.*, 19: 378-383, 1996.
- AZZI, A. The role of alpha-tocopherol in preventing disease. *Eur. J. Nutr.*, 43: 18-25, 2004.
- BALDESSARINI, R.J. Current status of antidepressants: clinical pharmacology and therapy. *J. Clin. Psychiatry*, 50: 117-126, 1989.
- BARNES, N.M., SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38: 1083-1152, 1999.
- BELMAKER, R.H. The future of depression psychopharmacology. *CNS Spectr.*, 13: 682-687, 2008.
- BENZIE, I.F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 47: 233-261, 1996.
- BERG, B.M., GODBOUT, J.P., KELLEY, K.W., JOHNSON, R.W. Alpha-tocopherol attenuates lipopolysaccharide-induced sickness behavior in mice. *Brain Behav. Immun.*, 18: 149-157, 2004.
- Berk, M., Copolov, D.L., Dean, O., Lu, K., Jeavons, S., Schapkaitz, I., Anderson-Hunt, M., Bush, A.I. N-acetyl cysteine for depressive symptoms in bipolar disorder - a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Biol. Psychiatry.*, 64: 468-475, 2008a.
- BERK, M., NG, F., DEAN, O., DODD, S., BUSH, A.I. Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends Pharmacol. Sci.*, 29: 346-351, 2008b.

BERMAN, R.M., CAPPIELLO, A., ANAND, A., OREN, D.A., HENINGER, G.R., CHARNEY, D.S., KRYSTAL, J.H. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol. Psychiatry.*, 47:351-354, 2000.

BERRIDGE, C.W., WATERHOUSE, B.D. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res. Rev.*, 42: 33-84, 2003.

BERTON, O., NESTLER, E.J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat. Rev. Neurosci.*, 7: 137-151, 2006.

BILICI, M., E.F.E., H., KOROGLU, M.A., UYDU, H.A., BEKAROGLU, M., DEGER, O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. *J. Affect. Disord.*, 64: 43-51, 2001.

BLIER, P., WARD, N.M. Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biol. Psychiatry*, 53: 193-203, 2003.

BORSINI F., MELI A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*, 94: 147-160, 1988.

BOURIN, M., MASSE, F., HASCOËT, M. Evidence for the activity of lamotrigine at 5-HT_{1A} receptors in the mouse forced swimming test. *J. Psychiatry Neurosci.*, 30: 275-282, 2005.

BOURRE, J.M. Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. Part 1: micronutrients. *J. Nutr. Health Aging*, 10: 377-385, 2006.

BOURRE, J., DUMONT, O., CLÉMENT, M., DINH, L., DROY-LEFAIX, M., CHRISTEN, Y. Vitamin E deficiency has different effects on brain and liver phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase activities in the rat. *Neurosci. Lett.*, 286: 87-90, 2000.

BOYER, P.A., SKOLNICK, P., FOSSOM, L.H. Chronic administration of imipramine and citalopram alters the expression of NMDA receptor subunit mRNAs in mouse brain. A quantitative in situ hybridization study. *J. Mol. Neurosci.*, 10: 219-233, 1998.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254, 1976.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R., TRABER, M.G. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.*, 13: 1145-1155, 1999.

BRINK, C.B., HARVEY, B.H., BRAND, L. Tianeptine: a novel atypical antidepressant that may provide new insights into the biomolecular basis of depression. *Recent Patents CNS Drug Discov.*, 1: 29-41, 2006.

BROCARDO, P.S., BUDNI, J., KASTER, M.P., SANTOS, A.R., RODRIGUES, A.L. Folic acid administration produces an antidepressant-like effect in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *Neuropharmacology*, 54: 464-473, 2008a.

- BROCARD, P.S., BUDNI, J., LOBATO, K.R., KASTER, M.P., RODRIGUES, A.L. Antidepressant-like effect of folic acid: Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway. *Eur. J. Pharmacol.*, 598: 37-42, 2008b.
- BRUNELLO, N., MENDLEWICZ, J., KASPER, S., LEONARD, B., MONTGOMERY, S., NELSON, J.C., PAYKEL, E., VERSIANI, M., RACAGNI, G. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 12: 461-475, 2002.
- BURKARD, W.P., GEY, K.F., WEISER, H., SCHWIETER, U. Decrease of norepinephrine in brain and heart of vitamin e deficient rats. *Experientia*, 24: 807-808, 1968.
- CALABRESE, V., MANCUSO, C., CALVANI, M., RIZZARELLI, E., BUTTERFIELD, D.A., STELLA, A.M. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat. Rev. Neurosci.*, 8: 766-775, 2007.
- CALBERG, I., MANNERVIK, B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol.*, 113: 484-489, 1985.
- CASTAÑO, A., HERRERA, A.J., CANO, J., MACHADO, A. Effects of a short period of vitamin E-deficient diet in the turnover of different neurotransmitters in substantia nigra and striatum of the rat. *Neuroscience*, 53: 179-185, 1993.
- CASTAÑO, A., VENERO, J.L., CANO, J., MACHADO, A. Changes in the turnover of monoamines in prefrontal cortex of rats fed on vitamin E-deficient diet. *J. Neurochem.*, 58: 1889-1895, 1992.
- CASTAÑO, A., VIZUETE, M.L., CANO, J., MACHADO, A. Turnover of monoamines in hippocampus of rats fed on vitamin E-deficient diet. *Brain Res.*, 604: 154-159, 1993.
- CELADA, P., PUIG, V.M., AMARGÓS-BOSCH, M., ADELL, A., ARTIGAS, F. The therapeutic role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in depression. *J. Psychiatry Neurosci.*, 29:252-265, 2004.
- CHAPUT, Y., BLIER, P., DE MONTIGNY, C. In vivo electrophysiological evidence for the regulatory role of autoreceptors on serotonergic terminals. *J. Neurosci.*, 6:2796-2801, 1986.
- CHARNEY, D.S., MANJI, H.K. Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. *Sci. STKE*, 225, 2004.
- CHIAVEGATTO, S., DAWSON, V.L., MAMOUNAS, L.A., KOLIATSOS, V.E., DAWSON, T.M., NELSON, R.J. Brain serotonin dysfunction accounts for aggression in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 1277-1281, 2001.
- CHOURBAJI, S., URANI, A., INTA, I., SANCHIS-SEGURA, C., BRANDWEIN, C., ZINK, M., SCHWANINGER, M., GASS, P. IL-6 knockout mice exhibit resistance to stress-induced development of depression-like behaviors. *Neurobiol. Dis.*, 23: 587-594, 2006.
- CIARONI, S., CECCHINI, T., FERRI, P., CUPPINI, R., AMBROGINI, P., SANTI, S., BENEDETTI, S., DEL GRANDE, P., PAPA, S. Neural precursor proliferation and newborn cell

survival in the adult rat dentate gyrus are affected by vitamin E deficiency. *Neurosci. Res.*, 44: 369-377, 2002.

COMPORTI, M. Three models of free radical-induced cell injury. *Chem. Biol. Interact.*, 72: 1-56, 1989.

COPPEN, A.J., DOOGAN, D.P. serotonin and its place in the pathogenesis of depression. *J. Clin. Psychiatry*, 49: 4-11, 1988.

CRYAN, J.F., MARKOU, A., LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.*, 23: 238-245, 2002.

CRYAN, J.F., O'LEARY, O.F., JIN, S., FRIEDLAND, J.C., OUYANG, M., HIRSCH, B.R., PAGE, M., DALVI, A., THOMAS, S.A., LUCKI, I. Norepinephrine-deficient mice lack responses to antidepressant drugs, including selective serotonin reuptake inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 101: 8186-8191, 2004.

CRYAN, J.F., PAGE, M.E., LUCKI, I. Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. *Psychopharmacology*, 182: 335-344, 2005a.

CRYAN J.F., SLATTERY D.A. Animal models of mood disorders: Recent developments. *Curr. Opin. Psychiatry*, 20: 1-7, 2007.

CRYAN J.F., VALENTINO R.J., LUCKI I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 29: 547-569, 2005b.

DANTZER, R. Cytokine, sickness behavior, and depression. *Neurol. Clin.*, 24: 441-460, 2006.

DANTZER, R., O'CONNOR, J.C., FREUND, G.G., JOHNSON, R.W., KELLEY, K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 9: 46-56, 2008

DANYSZ, W., KOSTOWSKI, W., KOZAK, W., HAUPTMANN, M. On the role of noradrenergic neurotransmission in the action of desipramine and amitriptyline in animal models of depression. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, 38: 285-298, 1986.

DA SILVA, G.D., MATTEUSSI, A.S., SANTOS, A.R.S., CALIXTO, J.B., RODRIGUES, A.L.S. Evidence for dual effects of nitric oxide in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. *Neuroreport.*, 11: 3699-702, 2000.

DE JESUS FERREIRA, M.C., CROUZIN, N., BARBANEL, G., COHEN-SOLAL, C., RÉCASSENS, M., VIGNES, M., GUIRAMAND, J. A transient treatment of hippocampal neurons with alpha-tocopherol induces a long-lasting protection against oxidative damage via a genomic action. *Free Radic. Biol. Med.*, 39: 1009-1020, 2005.

DELAY, J., LAINE, B., BUISSON, J.F. The action of isonicotinyl-hydrazide used in the treatment of depressive states. *Ann. Med. Psychol.*, 110: 689-692, 1952.

- DENNINGER, J.W., MARLETTA, M.A. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim. Biophys Acta*, 1411:334-350, 1999.
- DETKE, M.J., JOHNSON, J., LUCKI, I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp. Clin. Psychopharmacol.*, 5: 107-112, 1997.
- DHIR, A., KULKARNI, S.K. Possible involvement of nitric oxide (NO) signaling pathway in the antidepressant-like effect of MK-801(dizocilpine), a NMDA receptor antagonist in mouse forced swim test. *Indian J. Exp. Biol.*, 46: 164-170, 2008.
- DIRNAGL, U., SIMON, R.P., HALLENBECK, J.M. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci.*, 26: 248-254, 2003.
- DINAN, T.G. Inflammatory markers in depression. *Curr. Opin. Psychiatry*, 22: 32-36, 2009.
- DRINGER, R. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog. Neurobiol.*, 62: 649-671, 2000.
- DRINGEN, R., PAWLOWSKI, P.G., HIRRLINGER, J. Peroxide Detoxification by Brain Cells. *J. Neurosci. Res.* 79: 157-165, 2005.
- DUMAN, R.S. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. *Eur. Psychiatry*, 17: 306-310, 2002.
- DUNN, A.J., SWIERGIEL, A.H. Effects of interleukin-1 and endotoxin in the forced swim and tail suspension tests in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 81: 688-693, 2005.
- DUNN, A.J., SWIERGIEL, A.H., DE BEAUREPAIRE, R. Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies? *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 29: 891-909, 2005.
- ECKELI, A.L., DACH, F., RODRIGUES, A.L.S. Acute treatments with GMP produce antidepressant-like effects in mice. *Neuroreport*, 11:1839-43, 2000.
- EGGERMONT, E. Recent advances in vitamin E metabolism and deficiency. *Eur. J. Pediatr.*, 165: 429-434, 2006.
- ELHWUEGI, A.S. Central monoamines and their role in major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 28: 435-451, 2004.
- EREN, I., NAZIROĞLU, M., DEMİRDAŞ, A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem. Res.*, 32: 1188-1195, 2007a.
- EREN, I., NAZIROĞLU, M., DEMİRDAŞ, A., CELİK, O., UGUZ, A.C., ALTUNBASAK, A., OZMEN, I., UZ, E. Venlafaxine modulates depression-induced oxidative stress in brain and medulla of rat. *Neurochem. Res.*, 32: 497-505, 2007b.
- ERGÜN, Y., ERGÜN, U.G. Prevention of pro-depressant effect of L-arginine in the forced swim test by NG-nitro-L-arginine and [1H-[1,2,4]Oxadiazole[4,3-a]quinoxalin-1-one]. *Eur. J. Pharmacol.*, 554: 150-154, 2007.

- EROĞLU, L., CAĞLAYAN, B. Anxiolytic and antidepressant properties of methylene blue in animal models. *Pharmacol. Res.*, 36: 381-385, 1997.
- ESPLUGUES, J.V. NO as a signalling molecule in the nervous system. *Br. J. Pharmacol.*, 135: 1079-1295, 2002.
- ESPOSITO, E., ROTILIO, D., DI MATTEO, V., DI GIULIO, C., CACCHIO, M., ALGERI, S. A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiol. Aging.*, 23: 719-735, 2002.
- EVANS, H.M., BISHOP, K.S. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*, 56: 650-651, 1922.
- FLOHÉ, L., GÜNZLER, W.A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 105: 114-120, 1984.
- FLÜGGE, G., VAN KAMPEN, M., MEYER, H., FUCHS, E. Alpha2A and alpha2C-adrenoceptor regulation in the brain: alpha2A changes persist after chronic stress. *Eur. J. Neurosci.*, 17: 917-928, 2003.
- FORLENZA, M.J., MILLER, G.E. Increased serum levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in clinical depression. *Psychosom Med.*, 68: 1-7, 2006.
- FORRAY, M.I., BUSTOS, G., GYSLING, K. Noradrenaline inhibits glutamate release in the rat bed nucleus of the stria terminalis: in vivo microdialysis studies. *J. Neurosci. Res.*, 55: 311-320, 1999.
- FRANGO, S. Functional neuroimaging in mood disorders. *Psychiatry*, 5: 176-179, 2006.
- GADDUM, J.H. Antagonism between lysergic acid diethylamide and 5-hydroxytryptamine. *J. Physiol.*, 121: 15, 1953.
- GAGLIARDI, R.J. Neuroprotection, excitotoxicity and NMDA antagonists. *Arq. Neuropsiquiatr.*, 58: 583-588, 2000.
- GERACIOTI, T.D. JR., LOOSEN, P.T., EKHATOR, N.N., SCHMIDT, D., CHAMBLISS, B., BAKER, D.G., KASCKOW, J.W., RICHTAND, N.M., KECK, P.E. JR., EBERT, M.H. Uncoupling of serotonergic and noradrenergic systems in depression: preliminary evidence from continuous cerebrospinal fluid sampling. *Depress Anxiety*, 6: 89-94, 1997.
- GIANELLO, R., LIBINAKI, R., AZZI, A., GAVIN, P.D., NEGIS, Y., ZINGG, J.M., HOLT, P., KEAH, H.H., GRIFFEY, A., SMALLRIDGE, A., WEST, S.M., OGRU, E. Alpha-tocopheryl phosphate: a novel, natural form of vitamin E. *Free Radic. Biol. Med.*, 39: 970-976, 2005.
- GODBOUT, J.P., BERG, B.M., KRZYSZTON, C., JOHNSON, R.W. Alpha-tocopherol attenuates NF-kappaB activation and pro-inflammatory cytokine production in brain and improves recovery from lipopolysaccharide-induced sickness behavior. *J. Neuroimmunol.*, 169: 97-105, 2005.

- GOŁEMBIOWSKA, K., DZIUBINA, A. Effect of acute and chronic administration of citalopram on glutamate and aspartate release in the rat prefrontal cortex. *Pol. J. Pharmacol.*, 52: 441-448, 2000.
- GORDON, J.A., HEN, R. TREKing toward new antidepressants. *Nat. Neurosci.*, 9: 1081-3, 2006.
- GORMAN, J.M., SULLIVAN, G. Noradrenergic approaches to antidepressant therapy. *J. Clin. Psychiatry*, 1: 13-6, 2000.
- GRUNDMAN, M. Vitamin E and Alzheimer disease: the basis for additional clinical trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71: 630S-636S, 2000.
- GUIX, F.X., URIBESALGO, I., COMA, M., MUÑOZ, F.J. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog. Neurobiol.*, 76: 126-152, 2005.
- HALL, C.S. Emotional behaviour in the rat: III The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J. Comp. Psychol.*, 22: 345-352, 1936.
- HALLIWELL, B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*, 18: 685-716, 2001.
- HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.*, 97: 1634-1658, 2006.
- HARKIN, A.J., BRUCE, K.H., CRAFT, B., PAUL, I.A. Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. Acute treatments are active in the forced swim test. *Eur. J. Pharmacol.*, 372: 207-213, 1999.
- HARKIN, A.J., CONNOR, T.J., BURNS, M.P., KELLY, J.P. Nitric oxide synthase inhibitors augment the effects of serotonin reuptake inhibitors in the forced swimming test. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 14: 274-281, 2004.
- HARKIN, A.J., CONNOR, T.J., WALSH, M., ST JOHN, N., KELLY, J.P. Serotonergic mediation of the antidepressant-like effects of nitric oxide synthase inhibitors. *Neuropharmacology*, 44: 616-623, 2003.
- HARKIN, A., NALLY, R., KELLY, J.P., LEONARD, B.E. Effects of reboxetine and sertraline treatments alone and in combination on the binding properties of cortical NMDA and beta1-adrenergic receptors in an animal model of depression. *J. Neural Transm.*, 107: 1213-1227, 2000.
- HARRIS, E.C., BARRACLOUGH, B. Excess mortality of mental disorder. *Br. J. Psychiatry.*, 173: 11-53, 1998.
- HEAL, D.J., BUTLER, S.A., HURST, E.M., BUCKETT, W.R. Antidepressant treatments, including sibutramine hydrochloride and electroconvulsive shock, decrease beta 1- but not beta 2-adrenoceptors in rat cortex. *J. Neurochem.*, 53: 1019-1025, 1989.

- HEIBERG, I.L., WEGENER, G., ROSENBERG, R. Reduction of cGMP and nitric oxide has antidepressant-like effects in the forced swimming test in rats. *Behav. Brain Res.* 134: 479-484, 2002.
- HENSLER, J.G. Differential regulation of 5-HT_{1A} receptors-G protein interactions in brain following chronic antidepressant administration. *Neuropsychopharmacology*, 26: 565-573, 2000.
- HERKEN, H., GUREL, A., SELEK, S., ARMUTCU, F., OZEN, M.E., BULUT, M., KAP, O., YUMRU, M., SAVAS, H.A., AKYOL, O. Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Arch. Med. Res.*, 38: 247-252, 2007.
- HESLOP, K.E., GOSS-SAMPSON, M.A., MULLER, D.P., CURZON, G. Serotonin metabolism and release in frontal cortex of rats on a vitamin E-deficient diet. *J. Neurochem.*, 66: 860-864, 1996.
- HOEKSTRA, R., FEKKES, D., PEPPLINKHUIZEN, L., LOONEN, A.J., TUINIER, S., VERHOEVEN, W.M. Nitric oxide and neopterin in bipolar affective disorder. *Neuropsychobiology*, 54: 75-81, 2006.
- ISAAC, M.G., QUINN, R., TABET, N. Vitamin E for alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 3: CD002854, 2008.
- JACOBS, B.L., AZMITIA, E.C. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev.*, 72: 165-229, 1992.
- JOCA, S.R., FERREIRA, F.R., GUIMARÃES, F.S. Modulation of stress consequences by hippocampal monoaminergic, glutamatergic and nitrgergic neurotransmitter systems. *Stress*, 10: 227-249, 2007.
- KASTER, M.P., BUDNI, J., BINFARÉ, R.W., SANTOS, A.R.S., RODRIGUES, A.L.S. The inhibition of different types of potassium channels underlies the antidepressant-like effect of adenosine in the mouse forced swimming test. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 31: 690-696, 2007a.
- KASTER, M.P., RAUPP, I., BINFARÉ, R.W., ANDREATINI, R., RODRIGUES, A.L.S. Antidepressant-like effect of lamotrigine in the mouse forced swimming test: evidence for the involvement of the noradrenergic system. *Eur. J. Pharmacol.*, 565: 119-124, 2007b.
- KASTER, M.P., ROSA, A.O., SANTOS, A.R.S., RODRIGUES, A.L.S. Involvement of nitric oxide-cGMP pathway in the antidepressant-like effects of adenosine in the forced swimming test. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 8: 601-606, 2005a.
- KASTER, M.P., SANTOS, A.R.S., RODRIGUES, A.L.S. Involvement of 5-HT_{1A} receptors in the antidepressant-like effect of adenosine in the mouse forced swimming test. *Brain Res. Bull.*, 67: 53-61, 2005b.
- KAYDEN, H.J., TRABER, M.G. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J. Lipid Res.*, 34: 343-358, 1993.

- KHANZODE, S.D., DAKHALE, G.N., KHANZODE, S.S., SAOJI, A., PALASODKAR, R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Rep.* 8: 365-370, 2003.
- KELTNER, N.L., HOGAN, B., KNIGHT, T., ROYALS, L.A. Adrenergic, cholinergic, GABAergic, and glutaminergic receptor function in the CNS. *Perspect. Psychiatr. Care*, 37: 140-146, 2001.
- KENIS, G., MAES, M. Effects of antidepressants on the production of cytokines. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 5: 401-412, 2002..
- KITADA, Y., MIYAUCHI, T., KANAZAWA, Y., NAKAMICHI, H., SATOH, S. Involvement of alpha- and beta 1-adrenergic mechanisms in the immobility-reducing action of desipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology*, 22: 1055-1060, 1983.
- KONTUSH, K., SCHEKATOLINA, S. Vitamin E in neurodegenerative disorders: Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci.* 1031: 249-262, 2004
- KORNHUBER, J., WELLER, M. Psychotogenicity and N-methyl-D-aspartate receptor antagonism: implications for neuroprotective pharmacotherapy. *Biol. Psychiatry.*, 41: 135-44, 1997.
- KUGAYA, A., SANACORA, G. Beyond monoamines: glutamatergic function in mood disorders. *CNS Spectr.*, 10: 808-819, 2005.
- KUHN, R. The treatment of depressive states with G 22355 (imipramine hydrochloride). *AM. J. Psychiatry*, 115: 459-464, 1958.
- LANFUMEY, L., HAMON, M. 5-HT₁ receptors. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.*, 3: 1-10, 2004.
- LEE, I.M., COOK, N.R., GAZIANO, J.M., GORDON, D., RIDKER, P.M., MANSON, J.E., HENNEKENS, C.H., BURING, J.E. Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: the women's health study: a randomized controlled trial. *JAMA*, 294: 56-65, 2005.
- LEMKE, M.R. Depressive symptoms in Parkinson's disease. *Eur. J. Neurol.*, 15: 21-25, 2008.
- LEMONDE, S., TURECKI, G., BAKISH, D., DU, L., HRDINA, P.D., BOWN, C.D., SEQUEIRA, A., KUSHWAHA, N., MORRIS, S.J., BASAK, A., OU, X.M., ALBERT, P.R. Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *J. Neurosci.*, 23:8788-8799, 2003.
- LEONARD, B.E. The role of noradrenaline in depression: a review. *J. Psychopharmacol.*, 11: 39-47, 1997.
- LIEBRENZ, M., STOHLER, R., BORGEAT, A. Repeated intravenous ketamine therapy in a patient with treatment-resistant major depression. *World J. Biol. Psychiatry*, 10: 1-4, 2007.
- LOMAESTRO, B.M., MALONE, M. Glutathione in health and disease: pharmacotherapeutic issues. *Ann. Pharmacother.*, 29: 1263-1273, 1995.

- LOWRY, C.A., HALE, M.W., EVANS, A.K., HEERKENS, J., STAUB, D.R., GASSER, P.J., SHEKHAR, A. Serotonergic systems, anxiety, and affective disorder: focus on the dorsomedial part of the dorsal raphe nucleus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1148: 86-94, 2008.
- LUSCOMBE, G.P., MARTIN, K.F., HUTCHINS, L.J., GOSDEN, J., HEAL, D.J. Mediation of the antidepressant-like effect of 8-OH-DPAT in mice by postsynaptic 5-HT_{1A} receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 108: 669-677, 1993.
- MAES, M., DE VOS, N., PIOLI, R., DEMEDTS, P., WAUTERS, A., NEELS, H., CHRISTOPHE, A. Lower serum vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. *J. Affect. Disord.* 58: 241-246, 2000.
- MAHER, P. The effects of stress and aging on glutathione metabolism. *Ageing Res. Rev.*, 4: 288-314, 2005.
- MAKINO, M., KITANO, Y., HIROHASHI, M., TAKASUNA, K. Enhancement of immobility in mouse forced swimming test by treatment with human interferon. *Eur. J. Pharmacol.*, 356: 1-7, 1998.
- MALINSKI, T. Nitric oxide and nitroxidative stress in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 11: 207-218, 2007.
- MANNOURY LA COUR, C., BONI, C., HANOUN, N., LESCH, K.P., HAMON, M., LANFUMEY, L. Functional consequences of 5-HT transporter gene disruption on 5-HT(1a) receptor-mediated regulation of dorsal raphe and hippocampal cell activity. *J. Neurosci.*, 21: 2178-2185, 2001.
- MASUDA, Y., OHNUMA, S., SUGIYAMA, T. Alpha 2-adrenoceptor activity induces the antidepressant-like glycolipid in mouse forced swimming. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 23: 19-21, 2001.
- MAURA, G., MARCOLI, M., PEPICELLI, O., ROSU, C., VIOLA, C., RAITERI, M. Serotonin inhibition of the NMDA receptor/nitric oxide/cyclic GMP pathway in human neocortex slices: involvement of 5-HT(2C) and 5-HT(1A) receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 130, 1853-1858, 2000.
- McARTHUR, R., BORSINI, F. Animal models of depression in drug discovery: A historical perspective. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 84: 436-452, 2006.
- MCLEOD, T.M., LÓPEZ-FIGUEROA, A.L., LÓPEZ-FIGUEROA, M.O. Nitric oxide, stress, and depression. *Psychopharmacol. Bull.*, 35: 24-41, 2001.
- MILLAN, M.J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant. *Eur. J. Pharmacol.*, 500: 371-384, 2004.
- MILLAN, M.J., GOBERT, A., BERVOETS, K., RIVET, J.M., VEIGA, S., BROCCO, M. Induction of spontaneous tail-flicks in rats by blockade of transmission at N-methyl-D-aspartate receptors: roles of multiple monoaminergic receptors in relation to the actions of antipsychotic agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 292: 672-683, 2000.

- MIYAUCHI, T., KITADA, Y., NAKAMICHI, H., SATOH, S. Beta-adrenoceptor mediated inhibition of behavioral action of desipramine and of central noradrenergic activity in forced swimming rats. *Life Sci.*, 35: 543-551, 1984
- MODY, I., MACDONALD, J.F. NMDA receptor-dependent excitotoxicity: the role of intracellular Ca²⁺ release. *Trends Pharmacol. Sci.*, 16: 356-359, 1995.
- MOORE, R.Y., BLOOM, F.E. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu. Rev. Neurosci.*, 2: 113-168, 1979.
- MUNTEANU, A., ZINGG, J.M., AZZI, A. Anti-atherosclerotic effects of vitamin E - myth or reality? *J. Cell. Mol. Med.*, 8: 59-76, 2004.
- MUNTEANU, A., ZINGG, J.M. Cellular, molecular and clinical aspects of vitamin E on atherosclerosis prevention. *Mol. Aspects. Med.*, 28: 538-590, 2007.
- MURRAY, C.A., LYNCH, M.A. Dietary supplementation with vitamin E reverses the age-related deficit in long term potentiation in dentate gyrus. *J. Biol. Chem.*, 273: 12161-12168, 1998.
- NARDI, A.E. Depressão no Ciclo da Vida. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, 22: 151-152, 2000.
- NG, F., BERK, M., DEAN, O., BUSH, A.I. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 11: 851-876, 2008.
- NEGIS, Y., ZINGG, J.M., OGRU, E., GIANELLO, R., LIBINAKI, R., AZZI, A. On the existence of cellular tocopheryl phosphate, its synthesis, degradation and cellular roles: a hypothesis. *IUBMB Life*, 57: 23-25, 2005.
- NELSON, J.C., MAZURE, C.M., JATLOW, P.I., BOWERS, M.B. JR., PRICE, L.H. Combining norepinephrine and serotonin reuptake inhibition mechanisms for treatment of depression: a double-blind, randomized study. *Biol. Psychiatry*, 55: 296-300, 2004.
- NEMEROFF, C.B. The burden of severe depression: a review of diagnostic challenges and treatment alternatives. *J. Psychiatr. Res.*, 41: 189-206, 2007.
- NEMEROFF, C.B., OWENS, M.J. Treatment of mood disorders. *Nat. Neurosci.*, 5: 1068-1070, 2002.
- NESTLER, E.J., BARROT, M., DILEONE, R.J., EISCH, A.J., GOLD, S.J., MONTEGGIA, L.M. Neurobiology of depression. *Neuron*, 34: 13-25, 2002.
- NESTLER, E.J., CARLEZON, W.A. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol. Psychiatry*, 59: 1151-1159, 2006.
- NICHOLS, D.E., NICHOLS, C.D. Serotonin receptors. *Chem. Rev.*, 108: 1614-1641, 2008.
- NICHOLLS, D.G. Oxidative stress and energy crises in neuronal dysfunction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1147: 53-60, 2008.

NICOLETTI, F., BRUNO, V., COPANI, A., CASABONA, G., KNÖPFEL, T. Metabotropic glutamate receptors: a new target for the therapy of neurodegenerative disorders? *Trends Neurosci.*, 19: 267-271, 1996.

NISHIDA, Y., YOKOTA, T., TAKAHASHI, T., UCHIHARA, T., JISHAGE, K., MIZUSAWA, H. Deletion of vitamin E enhances phenotype of Alzheimer disease model mouse. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 350: 530-536, 2006.

OGRU, E., LIBINAKI, R., GIANELLO, R., WEST, S., MUNTEANU, A., ZINGG, J.M., AZZI, A. Modulation of cell proliferation and gene expression by alpha-tocopheryl phosphates: relevance to atherosclerosis and inflammation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1031: 405-411, 2004.

OJA, S.S., JANÁKY, R., VARGA, V., SARANSAARI, P. Modulation of glutamate receptor functions by glutathione. *Neurochem. Int.*, 37: 299-306, 2000.

ORDWAY, G.A., SCHENK, J., STOCKMEIER, C.A., MAY, W., KLIMEK, V. Elevated agonist binding to alpha2-adrenoceptors in the locus coeruleus in major depression. *Biol. Psychiatry*, 53: 315-323, 2003.

OWEN, A.J., BATTERHAM, M.J., PROBST, Y.C., GRENYER, B.F., TAPSELL, L.C. Low plasma vitamin E levels in major depression: diet or disease? *Eur J. Clin. Nutr.* 59: 304-306, 2005.

OZCAN, M.E., GULEC, M., OZEROL, E., POLAT, R., AKYOL, O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 19: 89-95, 2004.

PAGE, M.E., DETKE, M.J., DALVI, A., KIRBY, L.G., LUCKI, I. Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology*, 147: 162-167, 1999.

PALUCHA, A., PILC, A. The involvement of glutamate in the pathophysiology of depression. *Drug News Perspect.*, 18: 262-268, 2005.

PAPAKOSTAS, G.I., THASE, M.E., FAVA, M., NELSON, J.C., SHELTON, R.C. Are antidepressant drugs that combine serotonergic and noradrenergic mechanisms of action more effective than the selective serotonin reuptake inhibitors in treating major depressive disorder? A meta-analysis of studies of newer agents. *Biol. Psychiatry*, 62: 1217-1227, 2007.

PARK, C., CHO, K., RYU, J.H., SHIN, K.S., KIM, J., AHN, H., HUH, Y. 7-Nitroindazole upregulates phosphorylated cAMP response element binding protein, polysialylated-neural cell adhesion molecule and tryptophan hydroxylase expression in the adult rat hippocampus. *Brain Res.*, 1008: 120-125, 2004.

PASTORE, A., FEDERICI, G., BERTINI, E., PIEMONTE, F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin. Chim. Acta.*, 333: 19-39, 2003.

PAUL, I.A., SKOLNICK, P. Glutamate and depression: clinical and preclinical studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1003: 250-272, 2003.

- PITTENGER, C., DUMAN, R.S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33: 88-109, 2008.
- PLATT, S.R. The role of glutamate in central nervous system health and disease - a review. *Vet. J.* 173: 278-286, 2007.
- POLESZAK, E., WLAŹ, P., WRÓBEL, A., DYBAŁA, M., SOWA, M., FIDECKA, S., PILC, A., NOWAK, G. Activation of the NMDA/glutamate receptor complex antagonizes the NMDA antagonist-induced antidepressant-like effects in the forced swim test. *Pharmacol. Rep.*, 59: 595-600, 2007.
- PORSOLT, R.D., BERTIN, A., JALFRE, M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 229: 327-336, 1977.
- RADA, P., MORENO, S.A., TUCCI, S., GONZALEZ, L.E., HARRISON, T., CHAU, D.T., HOEBEL, B.G., HERNANDEZ, L. Glutamate release in the nucleus accumbens is involved in behavioral depression during the Porsolt swim test. *Neuroscience*, 119: 557-565, 2003.
- RAISON, C.L., CAPURON, L., MILLER, A.H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol.*, 27: 24-31, 2006.
- RÄSÄNEN, P., HAKKO, H., TIIHONEN, J. Pindolol and major affective disorders: a three-year follow-up study of 30,485 patients. *J. Clin. Psychopharmacol.*, 19: 297-302, 1999.
- REDROBE, J.P., BOURIN, M., COLOMBEL, M.C., BAKER, G.B. Dose-dependent noradrenergic and serotonergic properties of venlafaxine in animal models indicative of antidepressant activity. *Psychopharmacology*, 138: 1-8, 1998.
- REITER, E., JIANG, Q., CHRISTEN, S. Anti-inflammatory properties of alpha- and gamma-tocopherol. *Mol. Aspects Med.*, 28: 668-691, 2007.
- RICCI, L.C., WELLMAN, M.M. Monoamines: biochemical markers of suicide? *J. Clin. Psychol.*, 46: 106-116, 1990.
- RICCIARELLI, R., ZINGG, J.M., AZZI, A. Vitamin E 80th anniversary: a double life, not only fighting radicals. *IUBMB Life* 52: 71-76, 2001.
- RIED, L.D., MCFARLAND, B.H., JOHNSON, R.E., BRODY, K.K. Beta-blockers and depression: the more the murkier? *Ann. Pharmacother.*, 32: 699-708, 1998.
- RISCH, S.C., NEMEROFF, C.B. Neurochemical alterations of serotonergic neuronal systems in depression. *J. Clin. Psychiatry*, 53: 3-7, 1992.
- ROCHA, M.A., PUECH, A.J., THIEBOT, M.H. Influence of anxiolytic drugs on the effects of specific serotonin reuptake inhibitors in the forced swimming test in mice. *J. Psychopharmacology*, 11: 211-218, 1997.
- ROGÓZ, Z., SKUZA, G., MAJ, J., DANYSZ, W. Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology*, 42: 1024-1030, 2002.

- ROSA, A.O., LIN, J., CALIXTO, J.B., SANTOS, A.R., RODRIGUES, A.L. Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice. *Behav. Brain Res.*, 144: 87-93, 2003.
- RUDOLPH, R.L. Achieving remission from depression with venlafaxine and venlafaxine extended release: a literature review of comparative studies with selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta. Psychiatr. Scand. Suppl.*, 415: 24-30, 2002.
- SANACORA, G., ROTHMAN, D.L., MASON, G., KRYSTAL, J.H. Clinical studies implementing glutamate neurotransmission in mood disorders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1003: 292-308, 2003.
- SARANDOL, A., SARANDOL, E., EKER, S.S., ERDINC, S., VATANSEVER, E., KIRLI, S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. *Hum. Psychopharmacol.*, 22: 67-73, 2007.
- SARANDOL, A., SARANDOL, E., EKER, S.S., KARAAGAC, E.U., HIZLI, B.Z., DIRICAN, M., KIRLI, S. Oxidation of apolipoprotein B-containing lipoproteins and serum paraoxonase/arylesterase activities in major depressive disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 30: 1103-1108, 2006.
- SARGENT, P.A., KJAER, K.H., BENCH, C.J., RABINER, E.A., MESSA, C., MEYER, J., GUNN, R.N., GRASBY, P.M., COWEN, P.J. Brain serotonin 1A receptor binding measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch. Gen. Psychiatry*, 57: 174-180, 2000.
- SASABE, J., CHIBA, T., YAMADA, M., OKAMOTO, K., NISHIMOTO, I., MATSUOKA, M., AISO, S. D-serine is a key determinant of glutamate toxicity in amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J.*, 26: 4149-4159, 2007.
- SCHIEPERS, O.J., WICHERS, M.C., MAES, M. Cytokines and major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 29: 637-638, 2005.
- SCHMIDT, A.J., HEISER, P., HEMMETER, U.M., KRIEG, J.C., VEDDER, H. Effects of antidepressants on mRNA levels of antioxidant enzymes in human monocytic U-937 cells. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 32: 1567-73, 2008.
- SCHMIDT, H.D., DUMAN, R.S. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behav. Pharmacol.*, 18: 391-418, 2007.
- SCHNEIDER, C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49: 7-30, 2005.
- SCHUELKE, M., MAYATEPEK, E., INTER, M., BECKER, M., PFEIFFER, E., SPEER, A., HÜBNER, C., FINCKH, B. Treatment of ataxia in isolated vitamin E deficiency caused by alpha-tocopherol transfer protein deficiency. *J. Pediatr.*, 134: 240-244, 1999.
- SEN, C.K., KHANNA, S., ROY, S. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sci.* 78: 2088-2098, 2006.

- SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.*, 82: 291-295, 1997.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.*, 215: 213-219, 1993.
- SINGH, S., DIKSHIT, M. Apoptotic neuronal death in Parkinson's disease: involvement of nitric oxide. *Brain Res. Rev.*, 54: 233-250, 2007.
- SINGH, U., DEVARAJ, S., JIALAL, I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu Rev. Nutr.*, 25: 151-174, 2005.
- SKOLNICK, P. Antidepressants for the new millennium. *Eur. J. Pharmacol.*, 375: 31-40, 1999.
- SKOLNICK, P., LEGUTKO, B., LI, X., BYMASTER, F.P. Current perspectives on the development of non-biogenic amine-based antidepressants. *Pharmacol. Res.*, 43: 411-423, 2001.
- SNYDER, S.H. No NO prevents parkinsonism. *Nat. Med.*, 2: 965-966, 1996.
- SPROUSE, J.S., AGHAJANIAN, G.K. Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse.*, 1:3-9, 1987.
- SOKOL, R.J. Vitamin E deficiency and neurologic disease. *Annu. Rev. Nutr.*, 8: 351-373, 1988.
- STAHL, S.M., ENTSUAH, R., RUDOLPH, R.L. Comparative efficacy between venlafaxine and SSRIs: a pooled analysis of patients with depression. *Biol. Psychiatry*, 52: 1166-1174, 2002.
- STERU, L., CHERMAT, R., THIERRY, B., SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, 85, 367-370, 1985.
- STOCKER, A., AZZI, A. Tocopherol-binding proteins: their function and physiological significance. *Antioxid. Redox Signal.*, 2: 397-404, 2000.
- STONE, E.A., LIN, Y., ROSENGARTEN, H., KRAMER, H.K., QUARTERMAIN, D. Emerging evidence for a central epinephrine-innervated alpha 1-adrenergic system that regulates behavioral activation and is impaired in depression. *Neuropsychopharmacology*, 28: 1387-1399, 2003.
- SUZUKI, E., YAGI, G., NAKAKI, T., KANBA, S., ASAI, M. Elevated plasma nitrate levels in depressive states. *J. Affect. Disord.*, 63: 221-224, 2001.
- SZABO, S.T., BLIER, P. Effect of the selective noradrenergic reuptake inhibitor reboxetine on the firing activity of noradrenaline and serotonin neurons. *Eur. J. Neurosci.*, 13: 2077-2087, 2001a.
- SZABO, S.T., BLIER, P. Functional and pharmacological characterization of the modulatory role of serotonin on the firing activity of locus coeruleus norepinephrine neurons. *Brain Res.*, 922: 9-20, 2001b.
- TAGLIAFERRO, P., RAMOS, A.J., LOPEZ-COSTA, J.J., LÓPEZ, E.M., BRUSCO, A. Changes in the postnatal development on nitric oxide system induced by serotonin depletion. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 146: 39-49, 2003.

- TIETZE, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal. Biochem.* 27: 502-522, 1969.
- TORRES, G.E., GAINETDINOV, R.R., CARON, M.G. Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nat. Ver. Neurosci.*, 4: 13-25, 2003.
- TOWNSEND, D.M., TEW, K.D., TAPIERO, H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed. Pharmacother.*, 57: 145-155, 2003.
- TRABER, M.G. Vitamin E regulatory mechanisms. *Annu. Rev. Nutr.*, 27: 347-362, 2007.
- TRABER, M.G., ARAI, H. Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Annu. Rev. Nutr.*, 19: 343-355, 1999.
- TRABER, M.G., ATKINSON, J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic. Biol. Med.*, 43: 4-15, 2007.
- TRABER, M.G., FREI, B., BECKMAN, J.S. Vitamin E revisited: do new data validate benefits for chronic disease prevention? *Curr. Opin. Lipidol.*, 19: 30-38, 2008.
- TSUBOI, H., SHIMOI, K., KINAE, N., OGUNI, I., HORI, R., KOBAYASHI, F. Depressive symptoms are independently correlated with lipid peroxidation in a female population: comparison with vitamins and carotenoids. *J. Psychosom. Res.*, 56: 53-58, 2004.
- TSUBOI, H., TATSUMI, A., YAMAMOTO, K., KOBAYASHI, F., SHIMOI, K., KINAE, N. Possible connections among job stress, depressive symptoms, lipid modulation and antioxidants. *J. Affect. Disord.*, 91: 63-70, 2006.
- TZSCHENTKE, T.M. Glutamatergic mechanisms in different disease states: overview and therapeutical implications-an introduction. *Amino Acids*, 23: 147-152, 2002.
- ULUSU, N.N., SAHILLI, M., AVCI, A., CANBOLAT, O., OZANSOY, G., ARI, N., BALI, M., STEFEK, M., STOLC, S., GAJDOSIK, A., KARASU, C. Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. *Neurochem. Res.*, 28: 815-823, 2003.
- VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M.T., MAZUR, M., TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 39: 44-84, 2007.
- VAN HAAFTEN, R.I., HAENEN, G.R., EVELO, C.T., BAST, A. Effect of vitamin e on glutathione-dependent enzymes. *Drug Metab. Rev.*, 35: 215-253, 2003.
- VOLKE, V., WEGENER, G., BOURIN, M., VASAR, E. Antidepressant- and anxiolytic-like effects of selective neuronal NOS inhibitor 1-(2-trifluoromethylphenyl)-imidazole in mice. *Behav. Brain Res.*, 140: 141-147, 2003.
- WANG, W., BALLTORI, N. Endogenous Glutathione Conjugates: Occurrence and biological functions. *Pharmacol. Rev.*, 50: 332-355, 1998.

WEGENER, G., VOLKE, V., HARVEY, B.H., ROSENBERG, R. Local, but not systemic, administration of serotonergic antidepressants decreases hippocampal nitric oxide synthase activity. *Brain Res.*, 959: 128-134, 2003.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 77: 325-332, 1981.

WHALE, R., TERÃO, T., COWEN, P., FREEMANTLE, N., GEDDES, J. Pindolol augmentation of serotonin reuptake inhibitors for the treatment of depressive disorder: a systematic review. *J. Psychopharmacol.*, 2008, In Press. DOI: 10.1177/0269881108097714

WONG, M.L., LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2: 343-351, 2001.

WONG, D.T., PERRY, K.W., BYMASTER, F.P. Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 4: 764-774, 2005.

WU, S., BASILE, A.S., BARGER, S.W. Induction of serine racemase expression and D-serine release from microglia by secreted amyloid precursor protein (sAPP). *Curr. Alzheimer Res.*, 4: 243-251, 2007.

XU, Y., LI, S.W., ZHANG, Y., ZHANG, J.J. Effect of vitamin E on memory and brain monoaminergic neurotransmitter in chronic episodic hypoxia rat. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 25: 333-336, 2003.

YANIK, M., VURAL, H., TUTKUN, H., ZOROĞLU, S.S., SAVAŞ, H.A., HERKEN, H., KOÇYİĞİT, A., KELEŞ, H., AKYOL, O. The role of the arginine-nitric oxide pathway in the pathogenesis of bipolar affective disorder. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, 254: 43-47, 2004.

YILDIZ, F., ERDEN, B.F., ULAK, G., UTKAN, T., GACAR, N. Antidepressant-like effect of 7- nitroindazole in the forced swimming test in rats. *Psychopharmacology*, 149: 41-44, 2000.

ZAFIR, A., ARA, A., BANU, N. In vivo antioxidant status: A putative target of antidepressant action. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2008. DOI:10.1016/j.pnpbp.2008.11.010

ZAFIR, A., BANU, N. Antioxidant potential of fluoxetine in comparison to Curcuma longa in restraint-stressed rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 572: 23-31, 2007.

ZAJA-MILATOVIC, S., GUPTA, R.C., ASCHNER, M., MONTINE, T.J., MILATOVIC, D. Pharmacologic suppression of oxidative damage and dendritic degeneration following kainic acid-induced excitotoxicity in mouse cerebrum. *Neurotoxicology*, 29: 621-67, 2008.

ZARATE, C.A. JR., DU, J., QUIROZ, J., GRAY, N.A., DENICOFF, K.D., SINGH, J., CHARNEY, D.S., MANJI, H.K. Regulation of cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of mood disorders: role of the glutamatergic system. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1003: 273-291, 2003.

ZHOU, L., WELSH, A.M., CHEN, D., KOLIATSOS, V.E. NMDA inhibitors cause apoptosis of pyramidal neurons in mature piriform cortex: evidence for a nitric oxide-mediated effect involving inhibitory interneurons. *Neuropharmacology*, 52: 1528-1537, 2007.

ZINGG, J.M. Vitamin E: an overview of major research directions. *Mol. Aspects Med.*, 28: 400-422, 2007.

ZINGG, J.M., AZZI, A. Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr Med Chem.*, 11: 1113-1133, 2004.